

На правах рукописи

СЕЛИВАНОВСКАЯ СВЕТЛАНА ЮРЬЕВНА

**ОБОСНОВАНИЕ ПОДХОДОВ К ОЦЕНКЕ И НОРМИРОВАНИЮ
ВОЗДЕЙСТВИЯ ОСАДКОВ СТОЧНЫХ ВОД
НА ПРИРОДНЫЕ СРЕДЫ**

03.00.16 –экология

03.00.07 – микробиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

доктора биологических наук

КАЗАНЬ –2004

Работа выполнена на кафедре прикладной экологии экологического факультета
Государственного образовательного учреждения высшего профессионального
образования «Казанский государственный университет им. В.И. Ульянова-Ленина»

Научный консультант:	доктор химических наук, профессор В.З. Латыпова
Официальные оппоненты:	доктор биологических наук, старший научный сотрудник А.А. Ратушняк
	доктор биологических наук, профессор Г. И. Эль-Регистан
	доктор биологических наук, профессор О.Н. Ильинская
Ведущее учреждение:	Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь

Защита диссертации состоится 3 февраля 2004 г. в 14 часов 30 минут на заседании диссертационного Совета Д 212.081.19 при Казанском государственном университете по адресу: 420008 г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Казанского государственного университета

Автореферат разослан «____» _____ 2003 г.

Ученый секретарь
Диссертационного Совета
доктор химических наук

Г.А. Евтюгин

Актуальность работы. Функционирование городов как сложных гетеротрофных систем обуславливает увеличение количества отходов, обращение с которыми обостряет современные экологические проблемы, еще более осложненные недостаточностью научно обоснованной стратегии защиты окружающей среды и внутренней среды живых организмов от загрязнения и отравления их токсичными компонентами. К числу многокомпонентных отходов, размещаемых в природной среде, относятся осадки сточных вод (ОСВ), которые являются многотоннажным отходом коммунального хозяйства и представляют собой сложное образование, содержащее целый комплекс соединений, весь спектр которых невозможно предвидеть. С одной стороны, ОСВ характеризуются высоким содержанием органогенных элементов, что делает их привлекательными для использования в качестве мелиоранта нарушенных почв или органоминеральных удобрений в сельском хозяйстве, садоводстве, лесоводстве, в качестве грунта при зеленом строительстве и т.д. (Евилевич, 1988; Ние, 1995; Русаков с соавт., 1995; Касатиков с соавт., 1992, 1997, 1999). В то же время, осадки содержат токсичные неорганические и органические компоненты, вследствие чего любое обращение с осадками должно учитывать их двойственный характер. Любой способ обращения с ОСВ неизбежно повлечет за собой изменения в окружающей среде, поэтому для определения уровня и направленности воздействия необходима система предварительной прогнозирующей оценки.

Состояние и перспективы обращения с ОСВ в большой степени зависят от достижений фундаментальных наук в области изучения эколого-физиологических закономерностей функционирования трансформированных антропогенным воздействием природных экосистем, оценки их состояния и разработки обоснованных норм воздействия, т.е. экологического нормирования. Разработка оценок состояния окружающей природной среды насчитывает уже несколько десятилетий, однако проблема по-прежнему остается актуальной и далекой от завершения (Безель с соавт., 1992, 1993; Воробейчик с соавт., 1994; Пых, Малкина-Пых, 1996; Соколов с соавт., 1999, 2001; Filip et al., 2002; Латыпова с соавт., 2002). Практически неразработанной областью является экологическое нормирование многокомпонентных отходов, к числу которых относятся ОСВ. В то же время, в соответствии с Экологической доктриной Российской Федерации экологическое нормирование рассматривается как важный этап реализации государственной экологической политики. В современных условиях данное направление экологических исследований в рамках развития факториальной и прикладной экологии обоснованно причисляется к разряду фундаментальных и приоритетных.

В настоящее время обращение с ОСВ в основном регламентируется на основе санитарно-гигиенических нормативов (СанПиН 2.1.7.573-96, 1997). Исследованию подлежат агрохимические свойства и содержание токсикантов в осадках, миграция токсикантов в растения и урожайность сельскохозяйственных культур. Основное внимание уделяется контролю за качеством урожая и защите человека как конечного

звена пищевой цепи, для чего используется процедура сравнения содержания токсикантов в осадках, почве, растениях с величинами предельно допустимых концентраций (Soler-Rovira et al., 1996; Касатиков с соавт., 1992, 1999; Su, Wong, 2002; Минеев с соавт., 2003; Bhogal et al., 2003). Ряд работ посвящен влиянию осадков исключительно на микробные сообщества почвы, при этом авторами анализируются бытовые ОСВ, искусственно загрязненные одним, реже несколькими металлами (Fliessbach et al., 1994; McGrath et al., 1995; Giller et al., 1998; Moreno et al., 2002, 2003). Принимая во внимание то, что ОСВ крупных городов содержат широкий спектр токсикантов, недостаточность таких исследований очевидна. Кроме этого, в литературе не представлены подходы, позволяющие оценить опасность непосредственно ОСВ с позиций их воздействия на биотические компоненты природных экосистем и предложить на этой основе рациональные пути обращения с осадками. Перспективным с этих позиций мог бы стать экотоксикологический подход, использующий приемы биотестирования (Циприян с соавт., 1993; Пожаров с соавт., 1998; Жмур, 1998; Edwards et al., 2002; Jiang et al., 2003). Однако подходы к биотестированию ОСВ, тем более к формализации результатов исследований с целью ранжирования осадков по степени их опасности отсутствуют.

Целью работы явилось развитие новых подходов к экотоксикологическому нормированию воздействия и экологически безопасной утилизации муниципальных ОСВ крупного промышленного города, включающих комплексную оценку потенциальной опасности ОСВ с использованием батареи тест-организмов различного уровня организации, характеристику рациональной переработки осадка и выработку критериев норм безопасного внесения в почву с учетом воздействия на микробное сообщество почвы и растения.

Задачи исследования.

1. Установить критерии экологического нормирования применительно к ОСВ и определить их показатели при размещении осадков в окружающей среде. Создать систему биологических тестов и разработать алгоритм ранжирования ОСВ по классам опасности для окружающей среды. Определить токсиметрические характеристики предложенных тест-объектов по отношению к стандартным токсикантам. Установить метрологические параметры методик биотестирования для последующей их аттестации в системе Госстандарта РФ.

2. Охарактеризовать факторы, формирующие токсичность ОСВ. Выявить закономерности изменения токсичности ОСВ в процессе их образования и биологической обработки.

3. Изучить закономерности формирования ответного отклика микробного сообщества серой лесной почвы в зависимости от уровня загрязненности вносимых осадков сточных вод.

4. Провести сравнительную оценку биологических тестов, основанных на применении индивидуальных организмов, а также тестов с использованием микробных

сообществ с последующим формированием системы фактологических и функциональных критериев для оценки состояния почв, обработанных ОСВ.

5. Изучить влияние ОСВ, обработанных различными способами, на биологическую активность серой лесной почвы и определить оптимальный способ предварительной обработки осадка станции очистки сточных вод крупного промышленного города.

6. Изучить различные способы компостирования ОСВ для последующей утилизации компоста в качестве почвоулучшителя или укрывного материала полигонов твердых бытовых отходов.

7. Установить возможность применения ОСВ в качестве почвоулучшителя в лесных питомниках и выявить уровень допустимой нагрузки компонентов осадков на биоценозы обедненной серой лесной почвы. а) Исследовать влияние ОСВ на биологическую активность и структуру микробного сообщества обедненной серой лесной почвы лесных питомников. б) Определить изменение геохимического фона почв при внесении ОСВ. в) Выявить влияние ОСВ на эффективность выращивания семян сосны обыкновенной.

Научная новизна. Впервые с позиций системного подхода исследован широкий спектр разнонаправленных кратковременных и пролонгированных биологических эффектов, вызываемых органическим веществом и токсичными соединениями ОСВ крупного промышленного города. Сформулирована гипотеза общности в путях формирования токсичности объектов, содержащих органическое вещество и загрязненных металлами. Получен ряд приоритетных данных, пополняющих фундаментальные знания в области функционирования микробных сообществ и изучения их экофизиологического статуса под влиянием органо-минеральных добавок, в зависимости от уровня содержания в них токсичных компонентов. Экспериментально определены диапазоны ответных откликов почвенного биоценоза при воздействии осадков с различным содержанием металлов, определяющие способ их возможной утилизации. Работа такого масштаба, с полным валидным набором методов оценки состояния как самих ОСВ, так и почв, обработанных осадками, включающая лабораторные и полевые исследования, проведена впервые. Это позволило впервые сформировать алгоритм экотоксикологического нормирования и экологически безопасной утилизации муниципальных ОСВ, включающий комплексную оценку потенциальной опасности ОСВ с использованием батареи тест-организмов различного уровня организации, характеристику рациональной переработки осадка и выработку критериев норм безопасного внесения в почву с учетом воздействия на микробное сообщество почвы и растения. В целом, полученные результаты являются научно-обоснованным решением крупной экологической проблемы оценки опасности и минимизации негативного воздействия многокомпонентных антропогенных образований, размещаемых в природной среде, с учетом совокупных реакций почвенного микробного сообщества и высших растений.

Основные положения, выносимые на защиту.

- разработанный алгоритм ранжирования экологической опасности ОСВ, включающий совокупный анализ тест-реакций организмов различного уровня организации с последующим их сопоставлением с интервалами значений критериев отнесения ОСВ к различным классам опасности, позволяет объективно оценивать влияние ОСВ на биотические компоненты окружающей среды;
- предложенные критерии количественной оценки состояния почвы, обработанной ОСВ, предоставляют возможность охарактеризовать закономерности формирования ответного отклика (функционирования) микробных сообществ обедненной серой лесной почвы в условиях увеличивающегося уровня загрязнения вносимых ОСВ;
- схема лабораторного исследования ОСВ с использованием алгоритма ранжирования осадков по классам опасности и системы информативных критериев состояния почвенного сообщества применима для прогнозирования потенциального способа их утилизации;
- токсичность ОСВ представляет собой динамический процесс и формируется под влиянием совокупности биотических и антропогенных факторов, к числу которых относятся прямые токсические эффекты биодоступных форм металлов и действие фитотоксинов, продуцируемых доминирующими и часто встречаемыми в составе осадков микромицетами;
- оптимальным способом предварительной обработки ОСВ крупного промышленного города для его последующей утилизации в качестве почвоулучшителя или укрывного материала полигонов твердых бытовых отходов, является компостирование обеспечивающим снижение уровня токсичности ОСВ и благоприятные эффекты на растения и сообщества почвы. Доза внесения компоста из ОСВ крупного промышленного города в серую лесную почву лесного питомника под посевы сосны обыкновенной 90 т га^{-1} с периодичностью один раз в два года является экологически обоснованной.

Практическая значимость работы. Предложенный способ утилизации осадков сточных вод в качестве улучшителя обедненных почв лесных питомников с целью повышения их продуктивности внедрен в практику лесного питомника Матюшенского лесничества Пригородного лесхоза Республики Татарстан (РТ) с экономическим эффектом в размере 7420 рублей в переводе на 1 га по себестоимости семян.

По результатам проведенных исследований унифицирована, стандартизирована и аттестована (свидетельство государственной метрологической аттестации № 01.19.229/2000) методика определения токсичности отходов, почв, осадков сточных вод, сточных, и очищенных сточных, поверхностных, грунтовых и питьевых вод. Методика включена в Федеральный реестр методик выполнения измерений (ФР.1.39.2003.00923) и внедрена в практику экологического контроля служб Министерства природных ресурсов РФ (МПР РФ), лабораторий «Водоканалов» и используется в целях государственного и ведомственного экологического контроля.

Разработанные критерии и показатели ранжирования опасности ОСВ использованы при создании экспериментального способа оценки класса опасности отходов, принятого в природоохранной практике по линии МПР РФ (Приказ № 511 МПР РФ от 15.06.01 г.).

Результаты исследований используются при чтении лекций по курсам «Агроэкологический мониторинг», «Экология микроорганизмов», «Управление в обращении с отходами» и проведении специального практикума на кафедре прикладной экологии Казанского государственного университета (КГУ), а также на курсах повышения квалификации специалистов, работающих в области охраны окружающей среды. Монография «Региональное нормирование антропогенных нагрузок на природные среды» (2002) рекомендована для обучения студентов и аспирантов экологического факультета КГУ.

Результаты, полученные в модельных экспериментах и полевых исследованиях, могут быть использованы для совершенствования отдельных аспектов экологического нормирования хозяйственной деятельности человека, для уточнения системы почвенного мониторинга и при разработке мер по ремедиации подверженных антропогенному воздействию почв.

Апробация работы. Материалы диссертации докладывались и обсуждались на Республиканских научных конференциях "Актуальные экологические проблемы Республики Татарстан (Казань, 1994, 1995, 1997, 2000), конференциях «Новые направления биотехнологии» (Пушино, 1992, 1994), международном семинаре "Biosorption and Bioremediation" (Czech Republic, October 1995), научно-практической конференции "Почва, отходы производства и потребления : проблемы охраны и контроля" (Пенза, 1996), IV конференции по интенсификации нефтехимических процессов "Нефтехимия-96" (Нижекамск, 1996), VII съезде гидробиологического общества РАН (Казань, 1996), 4 международном симпозиуме «In Situ and On-Site Bioremediation» (New Orleans, April-May, 1997), 8 Европейском конгрессе по биотехнологии (Budapest, August 1997), I съезде токсикологов России (Москва, 1998), Международной заочной научно-практической конференции «Инфузории в биотестировании» (Санкт-Петербург, 1998), 5 международном симпозиуме «In Situ and On-Site Bioremediation» (San-Diego, California, April, 1999), Международной научной конференции «Изучение и охрана биологического разнообразия ландшафтов русской равнины» (Пенза, 1999), 10 международной конференции «ISCO 99», (West Lafayette, USA, 1999), Всероссийской конференции «Сельскохозяйственная микробиология» в XIX-XXI веках» (Санкт-Петербург, 2001), Поволжской конференции по аналитической химии (Казань, ноябрь 2001), Всероссийской конференции «Современные проблемы водной токсикологии» (Борок, ноябрь 2002), Научно-практической конференции «Экологические основы рационального лесопользования в среднем Поволжье» (Йошкар-Ола, 2002), XVII Менделеевском съезде по общей и прикладной химии (Казань, 2003), 2 Съезде токсикологов России (Москва, 2003).

Личный вклад автора. Основная работа по получению экспериментального материала, обобщению результатов и формулированию выводов выполнена непосредственно автором. Соавторами публикаций являются научный консультант (профессор В.З. Латыпова), коллеги, принимавшие участие в обсуждении результатов (профессор Р.П. Наумова, к.б.н. А.М. Петров, профессор Г.К Будников, А.П. Маслов), и в написании коллективных монографий (профессор Янг-Тсе Ханг, Кливлендский университет, Огайо, США, доцент Н.Ю Степанова, Казанский государственный технический университет), а также студенты (А.А. Алексеев, К.В. Егорова, М.В. Якимова, Д.Г. Тазиева) и аспиранты КГУ (Л.А. Артамонова, С.Н. Киямова, Г.М. Равзиева), участвовавшие в экспериментальной работе под руководством автора. Микробиологический анализ микромицетного сообщества был проведен совместно с к.б.н., доцентом каф. микробиологии КГУ Ф.К. Алимовой. При проведении полевых опытов в лесном питомнике большую помощь оказали д.с.-х.н профессор Н.М. Ведерников и к.с.-х.н. Н.С. Федорова (Татарская ЛОС ВНИИЛМ), а при статистической обработке результатов исследований - к.х.н., с.н.с Д.А. Семанов (НИИММ им. Чеботарева). Химический анализ ОСВ, отходов и почв проводился автором в лаборатории Экологического контроля КГУ (при участии инж. Е.Р. Ивановой, инж. Г.С. Лучкина, инж. З.Н. Арефьевой, к.х.н., с.н.с. С.П. Гисматуллиной) и в лаборатории Экологической биотехнологии КГУ (при участии к.х.н., вед.н.с. А.В. Гарусова). Часть образцов была проанализирована автором в лаборатории Управления отходами и агроэкологии (Гиссенский государственный университет, Германия) при консультации профессора С. Гейта и доктора Р. Дюринга в рамках выполнения работ по программе ДААД. Техническую помощь при работе с реальными ОСВ оказывал начальник отделения «Очистные сооружения» КУП «Водоканал» г. Казани Д.И. Хабибуллин.

Публикации. По теме диссертации в отечественной и зарубежной печати опубликовано 62 научные работы, в том числе 4 монографии и 23 статьи.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 346 страницах машинописного текста, содержит 47 рисунков и 46 таблиц и состоит из Введения, 4 глав (Обзор литературы, Материалы и методы исследований, Результаты, Обсуждение результатов), Выводов и Приложений. Список цитируемой литературы включает 431 наименование, из которых 239 работ на иностранных языках.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В обзоре литературы представлены современные сведения об образовании, характеристике и нормировании качества ОСВ, основанном на санитарно-гигиенических принципах. Рассмотрены методы биотестирования, предлагаемые для определения токсичности индивидуальных соединений, сточных вод, почв, донных отложений, с использованием организмов различных уровней организации – микроорганизмов (тесты, основанные на биолюминисценции, на измерении

ингибирования роста микробной культуры, на определении физиологической активности микроорганизмов, на их ферментативной активности, на оценке состава микробного сообщества), беспозвоночных (ракообразные, простейшие), высших растений. Уделено внимание подходам к созданию батарей тестов для оценки токсичности многокомпонентных объектов. Представленные данные литературы свидетельствуют о стремительном распространении метода биотестирования в рамках экотоксикологических исследований, однако к началу работы, процедура определения экологической опасности ОСВ отсутствовала. Единичные работы, посвященные биотестированию ОСВ, ограничивались лишь констатацией результатов в терминах “токсично” - “нетоксично”, носили несистемный характер и не ставили целью формализовать результаты исследований для ранжирования объектов по степени опасности.

Раздел, посвященный влиянию компонентов ОСВ на почвы и растения, включает анализ литературы о составе ОСВ, о влиянии компонентов осадков на характеристики почв различных типов. Представлены публикации о различных эффектах, оказываемых осадками на урожайность сельскохозяйственных культур, накопление в них металлов, а также немногочисленные сведения о внесении осадков под декоративные и лесные культуры.

В завершающей части обзора литературы представлены подходы к оценке влияния токсичных компонентов и ОСВ на почвенный микробоценоз. Представленный анализ литературы свидетельствует о том, что проблема экологического нормирования таких сложных антропогенных образований, как ОСВ, особенно ОСВ промышленных городов, находится в начальной стадии решения. Не вызывает сомнения необходимость поиска подхода к количественной, прогнозной оценке потенциальной опасности ОСВ для живых организмов сопредельных природных сред. Такой подход мог бы базироваться на приемах биотестирования, а также на совокупности ответных реакций растений и почвенного микробоценоза для разработки критериев экологически безопасной утилизации ОСВ крупного промышленного города.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объекты исследования. В работе использовали реальные ОСВ, образующиеся на станции очистки г. Казани и крупных городов Республики Татарстан, а также отходы, имеющие состав и консистенцию, подобную ОСВ. В экспериментах по созданию схемы ранжирования ОСВ по классам опасности использовали специально приготовленные модельные образцы, основу которых составил реальный осадок станции очистки г. Казани - смесь (1:1) первичного осадка, отобранного на насосной станции, и вторичного осадка, отобранного на илоуплотнителях. После определения компонентного состава реального осадка в него добавляли в виде растворимых солей металлы (Hg, Cd, Ni, Pb, Cr, Cu, Mn, Zn) и As в соотношении, согласующемся с

соотношением, указанным в СанПиН 2.1.7.573-96 (1996). Соли добавляли в таком количестве, чтобы при последующем определении класса опасности расчетным методом, индекс экологической опасности осадка составил 10, 100 и 1000. В том случае, если содержание металлов в реальном образце превышало необходимую концентрацию, разбавление проводили биогумусом. В итоге были созданы образцы К10, К100 и К1000. После внесения указанных загрязнителей осадки инкубировали в течение месяца в термостате при температуре 28⁰С для перевода металлов в присущие им в составе осадков естественные формы путем микробной трансформации.

В лабораторных экспериментах по определению критериев состояния почвы при воздействии ОСВ использовали модельные образцы, основу которых также составил реальный осадок станции очистки г. Казани. После определения компонентного состава реального осадка в него были добавлены в виде растворимых солей металлы (Hg, Cd, Ni, Pb, Cr, Cu, Mn, Zn и As), с таким расчетом, чтобы их содержание достигло предусмотренного СанПиН 2.1.7.573-96, а также превышало его в 5, 10 и 20 раз в результате были получены образцы ОСВ₁, ОСВ₅, ОСВ₁₀ и ОСВ₂₀. После инкубирования образцов осадков в течение месяца в термостате при температуре 28⁰С осадки вносили в почву в соотношении 1:150 и помещали в стеклянные инкубационные сосуды, вмещающие 1 кг смеси. Смесь инкубировали в течение 30 суток при 28⁰С в темноте. В итоге было получено четыре образца почвы (П₁, П₅, П₁₀ и П₂₀) с внесенными ОСВ, а также контрольный образец (П_к), в который осадок не вносили. Анализ почвенных образцов осуществляли на 5 и 30-е сутки инкубирования.

В экспериментах по оценке влияния различных способов обработки осадков на токсичность, использовали реальных осадок, перекачиваемый насосной станцией очистных сооружений г. Казани (*Каз_{исх}*) и осадок после обезвоживания в фильтр-прессе с использованием флокулланта «Праестол 655ВС» (*Каз_{фп}*), отобранные одновременно. Часть исходного ОСВ подвергали биологической обработке – анаэробному сбраживанию и компостированию. Биологическую обработку проводили в лабораторных условиях в соответствии со стандартными рекомендациями («Обработка...», 1985). В результате были получены анаэробно сброженный (*Каз_{сб}*) и компостированный (*Каз_{комп}*) осадки. В качестве наполнителя при компостировании использовали древесную стружку и торф в соотношении 1:1:1 (по массе). Часть исходного осадка хранили в течение трех месяцев при комнатной температуре разлитым тонким слоем, моделируя естественное обезвоживание на иловых картах, в результате чего был получен обезвоженный осадок (*Каз_{карт}*). Аналогичным образом приготовленные осадки (анаэробно сброженный, компостированный и необработанный) использовали при проведении мелкоделяночного полевого опыта.

Отбор проб и создание репрезентативной пробы. Пробы ОСВ отбирали методом конверта или пять точечных проб по диагонали. В том случае, если отбор проб методом конверта был затруднен, пробы отбирали по периметру карты через каждые 10 м. Пробы отбирали поверхностно (0-20 см) или послойно на глубинах 30-60 см в

количестве 0,1-0,3 кг в каждой точке. В случае высокой влажности ОСВ отбор проб осуществляли с помощью пробоотборников. Объединенную пробу ОСВ готовили по принципу средневзвешенности или среднепропорциональности. По принципу средневзвешенности объединенную пробу отхода готовили путем смешения одинакового массового количества вещества (твердые и пастообразные образцы с влажностью от 30 до 70%). По принципу среднепропорциональности объединенную пробу готовили из одинаковых объемов образцов (полужидкие образцы и пасты с высокой влажностью более 70%).

Пробы почвы отбирали методом конверта. С каждого участка отбирали по пять почвенных образцов с глубины 0-10 см. Пробы смешивали, конечная масса образцов составляла 0,5 кг. Образцы освобождали от корневых остатков, просеивали через сито (2 мм) и до начала анализа хранили при 4° С.

Подготовка экстрактов образцов. Образцы ОСВ, почв и отходов высушивали при температуре 60°С, растирали в почвоизмельчителе, просеивали через сито (2мм). Смесь образца и воды (в соотношении 1:10) перемешивали в течение 1 часа и отстаивали в течение 24 часов. Полученную суспензию центрифугировали в течение 10 минут при 5000 об/мин и надосадочную жидкость использовали для биотестирования.

Определение токсичности. Токсичность образцов определяли методом биотестирования. При определении токсичности устанавливали:

- среднюю летальную концентрацию отдельных веществ, вызывающую 50% ингибирование функций или гибель организмов (EC₅₀ или LC₅₀);
- безвредную кратность разбавления пробы, вызывающую 10% ингибирование функций или гибель организмов (Экр₁₀ или ЛКр₁₀).

Значения указанных показателей устанавливали графическим способом путем построения прямой методом наименьших квадратов в системе координат токсичность – кратность разведения.

Биотестирование с использованием бактерий. Методика основана на измерении ингибирующего эффекта токсичных веществ на рост клеток микроорганизмов *Pseudomonas putida* (ISO 10712, 1995).

Биотестирование с использованием простейших. Методика основана на определении смертности инфузорий *Paramecium caudatum* при воздействии токсичных веществ (Маслов с соавт., 1985, Selivanovskaya et al, 1997).

Биотестирование с использованием низших ракообразных. Методика основана на определении смертности ветвистоусых рачков *Daphnia magna* при воздействии токсичных веществ (ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.3-99,1999).

Биотестирование с использованием растений. Методика основана на измерении ингибирующего эффекта токсичных веществ на интенсивность прорастания семян *Raphanus sativus*.

Проведение полевых исследований. Полевой опыт с внесением в почву различно обработанных осадков проводили на биологической станции КГУ в течение

одного вегетационного сезона. Опытные участки площадью 2 м² располагали рандомизированно в четырехкратной повторности. Анаэробно сброженный и необработанный осадки вносили в дозе 10 т/га (по сухому веществу), компостированный осадок - в дозе 30 т/га. Контролем служил участок серой лесной почвы без внесения ОСВ. Почвенные образцы отбирали на 1, 3, 7, 15, 30, 60, 90 сутки исследования.

Для определения допустимой нагрузки ОСВ полевые четырехлетние опыты проводили в питомнике Матюшенского лесничества Пригородного лесхоза Республики Татарстан на серой лесной почве. Варианты опыта были размещены по участку рандомизированно в 4 - кратной повторности, размер опытных площадок - 4м². В работе использовали компост из ОСВ вод станции очистки г. Казани. Компост готовили из ОСВ, опилок и торфа в соотношении 1:1:1. В течение первых 2-х месяцев компост перемешивали, затем оставляли для дозревания без перемешивания еще на 3 месяца.

Опыты проводили в течение двух ротаций посевов сосны обыкновенной, период каждой ротация 2 года. В первой ротации компостированный осадок был внесен в почву в два срока: осенью 1998 г. и весной 1999 г. в дозе 30, 60, 90 т/га, в контрольном варианте компост не вносили. Во второй ротации компостированный осадок был внесен весной 2001г. по схеме, представленной в таблице 2.1. Семена сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* (2 класс, всхожесть 94%) высевали сеялкой СКП-6 по 5-строчной схеме. Норма высева 1,20 г (первая ротация) и 1,03 г (вторая ротация) на 1 м строчки. Учет растений проводили на средней строчке длиной 1 м каждой делянки семь раз в течение первого месяца с момента появления всходов, затем ежемесячно в течение первого года и дважды во второй год.

Таблица 2.1.

Схема внесения компостированного осадка в полевом эксперименте

Первая ротация			Вторая ротация	
<i>Шифр</i>	1998 г.*	1999 г.**	<i>Шифр</i>	2001 г.**
<i>варианта</i>			<i>варианта</i>	
30о	30***	-****	25	25
60о	60	-	50	50
90о	90	-	75	75
30в	-	30	30п	-
60в	-	60	60п	-
90в	-	90	90п	-
			100	100
			150	150
			175	175

Примечание. *- осеннее внесение; ** - весеннее внесение; *** - доза внесения.

Определение характеристик посевов сосны обыкновенной. В полевых опытах учитывали количество появившихся всходов сосны, гибель растений от инфекционного полегания и по другим причинам, грунтовую всхожесть, а также сохранность семян к осени. Для определения сохранности растений к осени подсчитывали число сохранившихся растений в трех средних строчках. Грунтовую всхожесть рассчитывали как отношение максимального количества всходов, появившихся до сентября, к количеству высеянных семян, выраженное в процентах. Биометрические показатели семян – длину корневой и высоту надземной частей растения и биомассу корневой и надземной частей – определяли у семян второго года. Биомассу определяли у высушенных растений. Учету подвергали по 200 семян каждого варианта.

Коэффициент биологического поглощения (КБП) определяли как отношение содержания элемента в тканях растения (C_p) к содержанию в почве (C_n): $КБП = C_p / C_n$.

Продуктивность почвы определяли по формуле: $П = B \times N \times 5 \times 10000$, где B – биомасса единичного растения; N – количество семян, сохранившихся к осени; 5 – число строк; 10000 – пересчетный коэффициент на 1 га.

Микробиологические методы. Измерение углерода микробной биомассы проводили экстракционно-фумигационным методом (ISO 14240-2, 1997). Измерение интенсивности дыхания небогащенной почвы (V_{basal}) проводили газохроматографическим методом (Гарусов с соавт., 1998). Метаболический коэффициент (qCO_2) рассчитывали как отношение дыхания небогащенной почвы V_{basal} к уровню микробной биомассы (Anderson, Domsch, 1993). Определение потенциальной активности азотфиксации осуществляли ацетиленовым методом (Методы..., 1991). Дегидрогеназную активность почвы определяли методом Ленарда в модификации Колешко (Колешко, 1981). Протеолитическую активность почвы определяли методом Галстяна и Арутюняна (Колешко, 1981). Уреазную активность почвы определяли методом Галстяна (Колешко, 1981). Интенсивность разложения целлюлозы определяли по убыли веса хлопчатобумажного полотна (Методы..., 1991).

Численность микроорганизмов различных физиологических и экологотрофических групп определяли методом посева на плотные питательные среды: мясопептонный агар – МПА (гетеротрофные бактерии), крахмало-аммиачный агар – КАА (бактерии, использующие минеральные формы азота и стрептомицеты), МПА с суслом (бактерии, образующие эндогенные споры), среда Чапека (микробицеты), почвенный агар – ПА (автохтонные микроорганизмы), голодный агар – ГА (олиготрофные микроорганизмы) (Методы..., 1991; Теппер с соавт., 1993; Зенова с соавт., 2002). Содержание в почве бактерий рода *Azotobacter* определяли методом комочков обрастания на среде Эшби (Бабьева, Зенова, 1989).

Коэффициенты, отражающие активность протекающих в почве процессов, вычисляли следующим образом: КАА/МПА (коэффициент минерализации органического азота), ГА/МПА (коэффициент олиготрофности), ПА/МПА (коэффициент педотрофности) (Андреюк с соавт., 1988; Возняковская с соавт., 1996).

Для определения фитотоксического эффекта, вызываемого сообществом микромицетов осадка, засекали осадком жидкую среду Чапека для грибов и выращивали в течение 7 суток, грибной мицелий отделяли центрифугированием в течение 10 мин при 4-5 тыс. об/мин. и надосадочную жидкость использовали для биотестирования. Аналогичным образом определяли фитотоксичность индивидуальных изолятов микромицетов.

Для изучения структуры сообщества микромицетов и их идентификации проводили посев болтушки реального ОСВ г. Казани (1:10) на твердую среду Чапека. Выросшие в течение 7 суток колонии отсекали на скошенную агаризованную среду Чапека в пробирки для дальнейшей идентификации. Идентификацию микромицетов осуществляли при их выращивании на твердой среде Чапека в течение 7-12 суток с использованием определителей (Литвинов, 1967, Пидопличко, 1972, Билай, Коваль, 1988). Для определения частоты встречаемости и плотности вида микромицетов брали 10 отдельных навесок по 10 г, готовили болтушки и производили посева. Определение частоты встречаемости, плотности вида и дифференциации комплекса микромицетов проводили в соответствии с (Мирчинк, 1988; Минеев с соавт., 1990).

Аналитические методы. Влажность определяли как потерю веса после высушивания образца при 105°C в течение 24 ч (ГОСТ 25713-85, 1985). Значения pH определяли потенциометрическим методом в водном (1:1) и солевом 1,0 М KCl (1:25) экстрактах. Содержание органического углерода определяли мокрым окислением 0,167 М $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ с последующим титрованием 0,1М $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (ГОСТ 26213-91, 1992). Содержание органического вещества определяли как потерю веса после прокалывания образца при температуре 800°C в течение 5 часов (ГОСТ 26714-85, 1985). Содержание азота (общего) определяли по методу Кьельдаля (ГОСТ 26715-85, 1985). Содержание фосфора определяли после окисления образца H_2SO_4 и H_2O_2 с последующей обработкой $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$, KH_2SbO_4 и аскорбиновой кислоты (ГОСТ 26717-85, 1985). Содержание подвижных форм калия и фосфора определяли после экстракции 0,05М уксусной кислотой в течение 1 ч (ГОСТ 26204-84, 1984).

Валовое содержание металлов в почвах, осадках, отходах и растениях определяли после мокрого окисления образца конц. HNO_3 и 3% H_2O_2 . Содержание подвижных форм металлов определяли после экстракции ацетатно-аммонийным буфером (pH 4,8) в течение 1ч. Оценку содержания металлов проводили методом атомной абсорбционной спектроскопии на приборе AAnalyst-300 (Perkin-Elmer, Nalwalk, USA) (Методические ..., 1989). Бенз(а)пирен определяли после экстракции бензолом с использованием жидкостной хроматографии (Дмитриев с соавт., 1989). Хлорированные органические соединения – ПХБ, ДДТ и его метаболиты и линдан - определяли после экстракции смесью ацетона и гексана с последующим разделением щелочным гидрохлорированием и окислением хромовым ангидридом, используя газо-жидкостную хроматографию с детектором электронного захвата (Клисенко, 1989).

Определение класса опасности расчетным способом проводили в соответствии с приказом МПР РФ от 15.06.2001г. №511 "Об утверждении критериев отнесения опасных отходов к классу опасности для окружающей среды" (Критерии., 2001) по формуле: $K = K_1 + K_2 + \dots + K_n$, где K - показатель степени опасности отхода для окружающей природной среды; K_1, K_2, \dots, K_n - показатели степени опасности отдельных компонентов отхода для окружающей природной среды, который рассчитывается по формуле: $K_i = C_i / W_i$, где C_i - концентрация i -го компонента в отходе (мг/кг отхода); W_i - коэффициент степени опасности i -го компонента отхода для окружающей природной среда (мг/кг).

Расчет суммарного показателя загрязнения (Z_c) и коэффициентов концентрации (K_c) проводили по формулам $Z_c = \sum K_c - (n-1)$, $K_c = C / C_{\phi}$, где C – содержание элемента в исследуемом объекте, C_{ϕ} – фоновое содержание элемента (в данном исследовании содержание элемента в контрольном варианте (Саега с соавт., 1990).

Статистическая обработка полученных результатов. Измерение всех параметров проводили не менее чем в трехкратной повторности. Статистическую обработку результатов проводили с помощью электронных таблиц Excell и программы Origin 7.0. Достоверность различий полученных результатов оценивали с использованием коэффициента Стьюдента ($P < 0,05$). Взаимосвязь ряда факторов устанавливали посредством расчета коэффициента корреляции (Корн, Корн, 1978). Нормативы сходимости и воспроизводимости рассчитывали по формуле: $d = 2,77\sigma(\bar{A})$ и $D = 1,8d$.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

1. Разработка экспериментальной схемы оценки опасности осадков сточных вод для окружающей природной среды

Для оценки опасности ОСВ предложено определение их токсичности методом биотестирования с использованием системы биологических тестов, включающей бактерий *Pseudomonas putida*, простейших *Paramecium caudatum*, ракообразных *Daphnia magna* и высшие растения *Raphanus sativus*. Для того чтобы иметь возможность применять результаты определения токсичности при ранжировании осадков по степени опасности на основе реальных образцов осадков г. Казани были приготовлены модельные образцы осадков, являющиеся граничными при их ранжировании по классам опасности - практически неопасные и малоопасные (K_{10}), малоопасные и умеренно опасные (K_{100}) и умеренно опасные и высокоопасные (K_{1000}). Получены водные экстракты (1:10) модельных образцов и проведено их биотестирование с использованием предложенных тест-объектов.

Прежде всего показано, что по критерию Шапиро–Уилкоксона распределение данных биотестирования является нормальным. В качестве критериев экологического нормирования приняты ответные реакции тест-организмов - уровень смертности *P. caudatum*, и *D. magna* и ингибирование роста *Ps. putida*, и *R. sativus*. Определены

показатели - кратность разбавления экстракта, не оказывающая токсического действия по отношению к тест-объекту ($ЛКр_{10}$ или $ЭКр_{10}$). Поскольку в случае нативного экстракта образца K10 не обнаружено токсического эффекта, кратность разбавления, вызывающая 10% эффект, принята равной нулю. Негативный эффект обнаружен при тестировании как нативных экстрактов, так и ряда их разведений для образцов K100 и K1000. Установленные значения $ЛКр_{10}$ и $ЭКр_{10}$ для образцов K100 и K1000 составили для *Ps. putida* - 25 и 650 (рис.3.1), для *P. caudatum* - 160 и 1490, для *D. magna* - 230 и 1500 и для *R. sativus* - 5 и 100 соответственно.

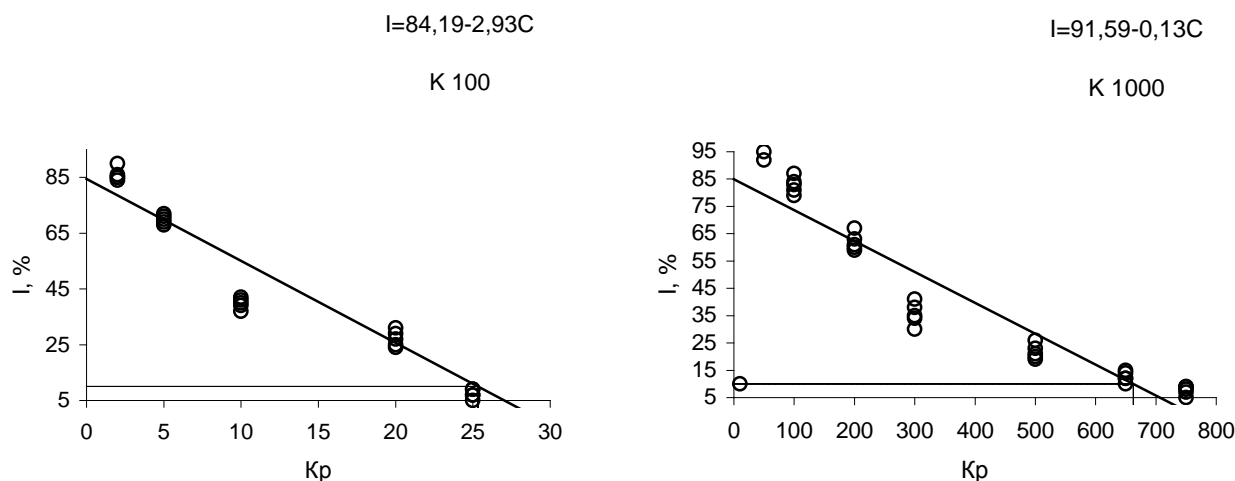


Рис.3.1. Токсичность ($I, \%$) модельных образцов осадков сточных вод (K100 и K1000), определенная с использованием *Ps. putida*, в зависимости от кратности разведения (Kp) водного экстракта

На основании полученных результатов разработан алгоритм ранжирования ОСВ по классам опасности. Он интегрирует как расчетный (см. раздел «Материалы и методы»), так и экспериментальный способ определения, основанный на результатах экотоксикологических исследований (рис. 3.2). Отнесение ОСВ к классам опасности включает два параллельных этапа. Первый из них состоит в определении группы показателей, характеризующих состояние осадков. Методами химического анализа количественно определяется содержание компонентов в составе осадков и рассчитывается индекс (K) степени опасности осадка (расчетный способ). Параллельно получают водный экстракт ОСВ и анализируют экстракт методами биотестирования. Если уровень токсичности исследуемого образца достоверно не отличается от уровня токсичности контроля (вода или культивационная жидкость) в случае всех тест-объектов, образец может быть отнесен к 5 классу (практически неопасные). Если значение $ЛКр_{10}$ водного экстракта, например, для дафниевого теста ниже или равно 230, образец должен быть отнесен к 4 классу опасности (малоопасные); если значение $ЛКр_{10}$ водного экстракта установлено в диапазоне 230 и 1500, то образец должен быть отнесен к 3 классу опасности (умеренно опасные). В том случае, когда уровень $ЛКр_{10}$ водного экстракта превышает 1500, образец должен быть отнесен ко 2 классу опасности

(высокоопасные). В итоге исследуемому образцу присваивается класс опасности, наиболее жесткий из установленных расчетным или экспериментальным способом.

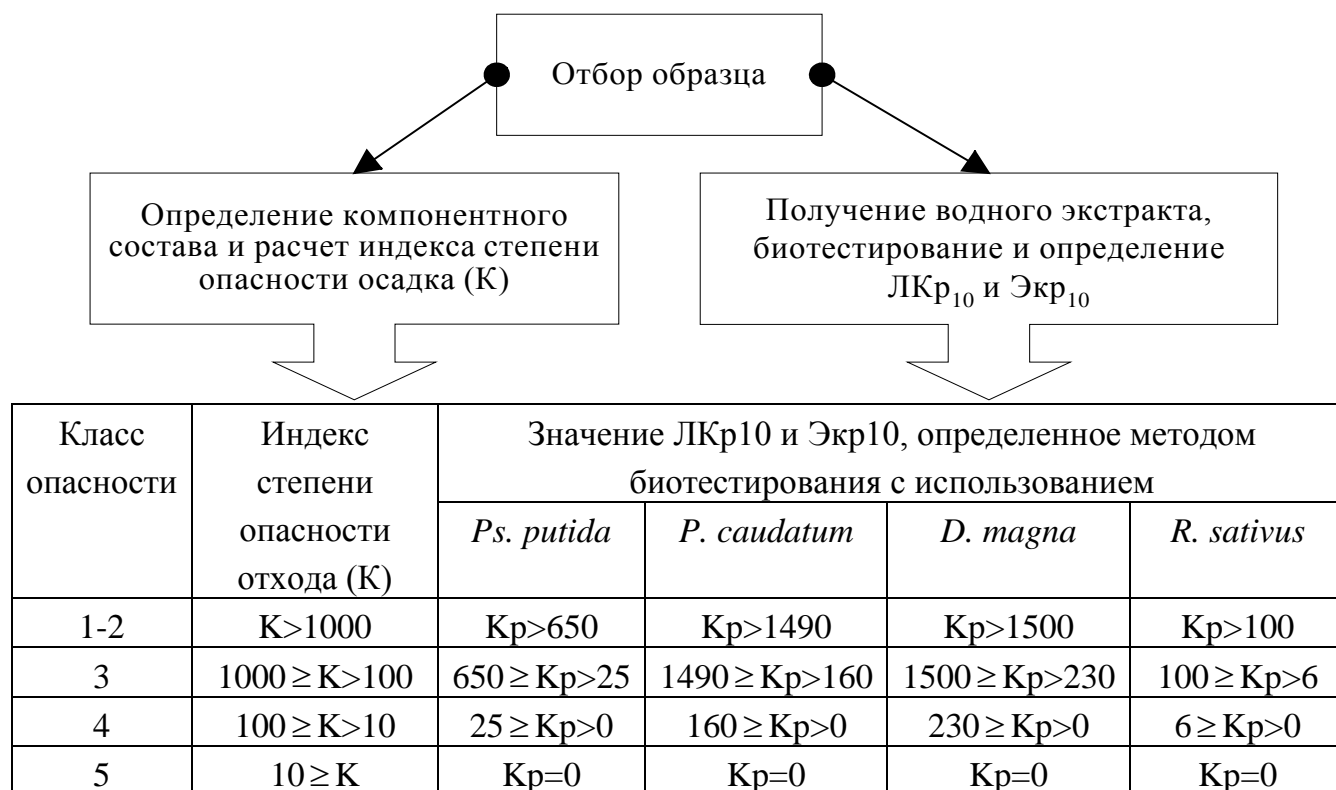


Рис.3.2. Алгоритм отнесения ОСВ к классам опасности (1-2 - чрезвычайно и высокоопасные, 3 - умеренно опасные, 4 – малоопасные, 5 - практически неопасные)

2. Определение экотоксикологического потенциала реальных образцов осадков сточных вод

Проанализированы реальные образцы ОСВ, образующиеся на станциях очистки ряда городов и различающиеся стадиями образования и обработкой, а также отходы. Установлено, что для 65,5% образцов итоговый класс опасности определялся на основании результатов биотестирования, а у 37,5% образцов классы опасности, определенные расчетным и экспериментальным способами, совпадали. По совокупности полученных результатов максимальное количество осадков (59,4%) было отнесено к 4 классу опасности, меньшее количество (34,4%) к 3 классу опасности, к 5 классу было отнесено лишь 6,2% образцов. Проведенный корреляционный анализ не выявил достоверной взаимосвязи между уровнем токсичности, определенной с использованием каждого из тест-объектов, и содержанием металлов и органических токсикантов, что свидетельствует о невозможности исключения какого-либо параметра или замены одного из них другим.

Предложенный новый подход, основанный на экотоксикологическом исследовании ОСВ с использованием системы биологических тестов, в сочетании с

расчетным способом обеспечивает достоверную оценку их потенциальной опасности при их размещении в окружающей среде.

3. Оценка токсикометрических характеристик тест-организмов по отношению к стандартным токсикантам и определение метрологических характеристик методик биотестирования

Проведенные исследования токсичности стандартных токсикантов ($K_2Cr_2O_7$ и 3,4-дихлорфенол) с использованием всех тест-объектов позволили выявить дозозависимые эффекты и определить показатели LC_{50} и EC_{50} , наиболее часто используемые в токсикологии для индивидуальных соединений. Обработка результатов биотестирования путем расчета значений среднего квадратического отклонения среднего ($\sigma(\bar{x})$) для результатов определения токсичности и последующего выбора оптимальных зависимостей $\sigma(\bar{x}) = f(C)$ позволила построить по точкам, имеющим максимальные значения $\sigma(\bar{x})$, графики, описываемые функциями: $\sigma(\bar{x}) \% = 31,5 - 0,02C$ (*Ps. putida*, $K_2Cr_2O_7$); $\sigma(\bar{x}) \% = 22,9 - 0,03C$ (*Ps. putida*, 3,4-дихлорфенол); $\sigma(\bar{x}) \% = 10,5 - 0,003C$ (*P. caudatum*, $K_2Cr_2O_7$); $\sigma(\bar{x}) \% = 5,5 - 0,01C$ (*R. sativus*, $K_2Cr_2O_7$). Полученные графики и их функции, в свою очередь, дали возможность рассчитать значения погрешности определения ($\sigma(\bar{x})$) для LC_{50} или EC_{50} (табл.3.1).

На основании результатов многократного определения токсичности, с использованием ранее установленных зависимостей в координатах « $\sigma(\bar{x})\% - C$ » определены метрологические характеристики методик биотестирования – нормативы сходимости и воспроизводимости.

Нормативы оперативного контроля установлены для анализа токсичности стандартных токсикантов, образцов ОСВ, почв и отходов.

Таблица 3.1

Допустимые диапазоны значений LC_{50} (EC_{50}) стандартных токсикантов

Тест-объект	Диапазон значений LC_{50} (EC_{50}), мг/л	Тест-объект	Диапазон значений LC_{50} (EC_{50}), мг/л
<i>R. sativus</i> ($K_2Cr_2O_7$)	139,9 – 176,7	<i>Ps. putida</i> ($K_2Cr_2O_7$)	827,1 – 1208,6
<i>P. caudatum</i> ($K_2Cr_2O_7$)	1845,6 – 2130,8	<i>Ps. putida</i> (3,4- дихлорфенол)	43,4 – 56,6

Практическим результатом этих исследований явилось получение свидетельства об аттестации методики биотестирования с использованием *P. caudatum* и внедрение ее в практику государственного и ведомственного экологического контроля.

4. Изменение уровня токсичности осадков сточных вод в процессе их обработки и хранения

Исследования, проведенные с четырьмя образцами реальных ОСВ - исходный осадок ($ОСВ_{исх}$) и осадок после обезвоживания в фильтр-прессе ($ОСВ_{фп}$), единовременно отобранные на станции очистки г. Казани, и анаэробно сброженный ($ОСВ_{сб}$) и компостированный ($ОСВ_{комп}$) исходный осадок, выявили следующее. Максимальную токсичность в отношении всех тест-объектов проявил экстракт образца, обработанного флокулянтom в фильтр-прессе (100% ингибирование нативным экстрактом тест-функций в случае *Ps. putida*, *D. magna* и *R. sativus*). Установлена тенденция снижения уровня токсичности в ряду $ОСВ_{исх}$, $ОСВ_{сб}$, $ОСВ_{комп}$, характерная для всех использованных организмов. При анализе реальных осадков, имитирующих четырехмесячное хранение, обратная корреляция параметров токсичность-время ($R=0,92-0,97$) выявлена в 50% образцов. В остальных случаях наблюдалось симбатное изменение параметров.

Обнаруженная тенденция к снижению уровня токсичности, более выраженная при биологической обработке осадка, позволяет считать токсичность - динамическим показателем. Установленные различия в токсичности образцов осадков, подвергнутых различной обработке, представляются важными с позиции прогнозирования возможных путей дальнейшей экологически и экономически приемлемой утилизации осадков.

5. Оценка природных и антропогенных факторов формирования уровня фитотоксичности осадков сточных вод

Исследование проведено на примере компостирования, поскольку в этом процессе выявлено максимальное снижение уровня токсичности. Выявлено, что уровень фитотоксичности достоверно увеличивался к 30 суткам компостирования (от 33 до 49%), через четыре месяца уровень токсичности компоста оказался достоверно ниже по сравнению с исходным значением (рис.3.3). Определение соотношения содержания подвижных форм металлов к их валовому содержанию выявило тенденцию

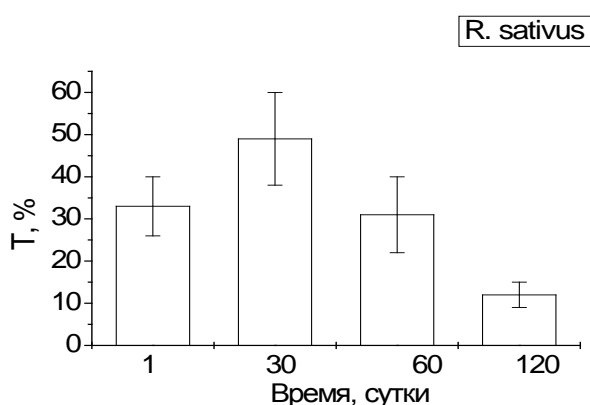


Рис. 3.3. Изменение уровня фитотоксичности в процессе компостирования осадка сточных вод

к снижению подвижности металлов в процессе компостирования в целом и увеличение подвижности на 30 сутки компостирования, наиболее выраженное в случае Cd, Cu и Pb. Уровень токсичности почвы или компостов из органического вещества может определяться и присутствием органических соединений, обладающих фитотоксическими эффектами, основными продуцентами которых являются микровицы. Для понимания особенностей формирования

токсичности ОСВ, нами была изучена способность оказывать ингибирующий эффект на высшие растения микромицетным сообществом реального ОСВ г. Казани. На первом этапе было установлено, что нативный экстракт и культуральная жидкость микромицетного сообщества, выделенного из этого же образца вызывали 100% угнетение прорастания семян (ЭКр₁₀ составила соответственно 12 и 16), что свидетельствует о существенном вкладе микромицетов в формирование фитотоксичности. На следующем этапе был охарактеризован комплекс микромицетов. Для определения значимости вида (оценки его типичности и положения в структуре доминирования) определен критерий частоты встречаемости микромицета, для оценки представленности микроорганизмов установлен показатель плотности вида. На основании рассчитанных критериев составлена схема комплекса микромицетов (табл. 3.2). Последующая идентификация выделенных штаммов позволила установить, что из 14 выделенных штаммов четыре принадлежали к роду *Aspergillus*, два к роду *Penicillium*, остальные микромицеты относились к различным другим родам. Доминирующие и часто встречаемые виды были тестированы на способность к токсинообразованию и установлено, что наибольшую фитотоксичность проявляли штаммы, отнесенные к группе доминирующих (фитотоксичность культуральной жидкости штаммов 1 и 3 составила 49 и 48% соответственно).

Таким образом, наряду с негативным действием токсикантов, присутствующих в составе ОСВ, токсический эффект осадков может быть обусловлен и природными соединениями, являющимися продуктами метаболизма представителей микробного сообщества осадков.

Таблица 3.2.

Характеристика микромицетного сообщества осадка сточных вод г. Казани

Характеристика вида	№ штамма	Родовая принадл.	Видовая принадл.	Частота встреч. %	Плотность вида, %	Фитотоксичность, %
Доминирующий	1	<i>Aspergillus</i>	<i>fumigatus</i>	60	24,5	49
	3	<i>Mycelia</i>	<i>sterilia</i>	60	21,3	48
Частовстречающийся	11	<i>Oospora</i>	<i>species</i>	50	19,6	12
	2	<i>Halobyssus</i>	<i>zukai</i>	30	4,91	0
	12	<i>Acremonium</i>	<i>species</i>	30	9,83	18
Случайный	4	<i>Oospora</i>	<i>species</i>	10	3,27	-
	5	<i>Penicillium</i>	<i>ciclopium</i>	10	1,63	-
	6	<i>Aspergillus</i>	<i>species</i>	10	3,27	-
	7	<i>Aspergillus</i>	<i>niger</i>	10	1,63	-
	8	<i>Mucor</i>	<i>species</i>	10	1,63	-
	10	<i>Penicillium</i>	<i>species</i>	10	1,63	-
	13	<i>Fusidium</i>	<i>species</i>	10	1,63	-
	14	<i>Aspergillus</i>	<i>clavatus</i>	10	3,27	-
	15	<i>Pullularia</i>	<i>berhout</i>	10	1,63	-

6. Обоснование системы критериев состояния серой лесной почвы в условиях воздействия компонентов осадков сточных вод

Для определения принципиальной возможности полезной утилизации осадков, необходимо учитывать не только их способность удерживать токсичные соединения, но и последствия внесения осадков в почву как среду обитания живых организмов. То есть в данном случае объектом нормирования должна являться почва. Исходя из этого, в условиях лабораторного эксперимента было проведено моделирование загрязнения почвы осадками, содержащими возрастающие концентрации металлов (см. раздел «Материалы и методы»), и определены показатели состояния почв, наиболее значимые в условиях использования ОСВ. Внесение модельных ОСВ в почву в соотношении 1:150, привело к незначительному увеличению содержания органического вещества, не оказало существенного влияния на кислотность почвы. Не выявлено достоверных различий в содержании металлов при сравнении образцов Π_k и Π_1 , тогда как в образцах Π_5 , Π_{10} и Π_{20} отмечено достоверно более высокое содержание металлов. Таким образом, поскольку содержание органического вещества и pH в исследуемых образцах практически одинаково, в эксперименте оценивали непосредственно влияние металлов.

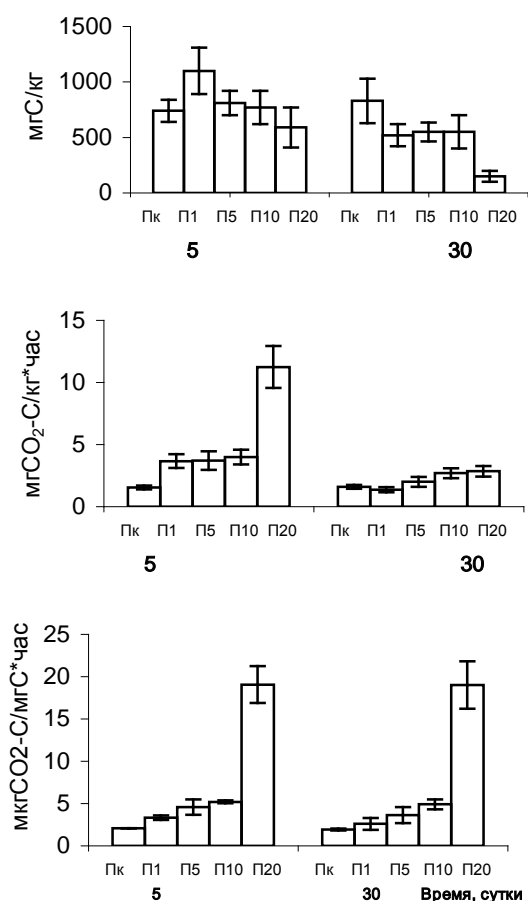


Рис. 3.4. Влияние металлов, входящих в состав осадков сточных вод на микробную биомассу (А), интенсивность почвенного дыхания (V_{basal}) (Б) и метаболический коэффициент ($q\text{CO}_2$) (В)

Через 5 суток инкубирования уровень микробной биомассы в образце Π_1 оказался выше по сравнению с контрольным образцом, а через 30 суток выявлена обратно пропорциональная зависимость уровня микробной биомассы и содержания металлов ($R=-0,87$) (рис.3.4). Внесение модельных образцов осадков в почву существенно увеличило дыхательную активность микробных сообществ (5 сутки исследования). Максимальное значение метаболического коэффициента выявлено для образца Π_{20} , содержащего максимальное количество металлов. Уровень метаболического коэффициента достоверно не различался на 5 и 30 сутки исследований, однако демонстрировал тенденцию к снижению. Обнаружена прямая корреляция между содержанием металлов в образцах и уровнем метаболического коэффициента ($R=0,91$). Уже через 5 суток после внесения осадков выявлено достоверное снижение нитрогеназной активности за исключением образца Π_1 . В случае образца Π_{20} отмечено

полное подавление фиксации N_2 через 5 суток инкубирования, а через 30 суток аналогичный эффект установлен и в случае образца P_{10} (рис.3.5). Таким образом, для образцов P_{10} и P_{20} отмечено достоверное ингибирование процесса. Анализ численности азотобактера продемонстрировал зависимость, сходную с таковой для гетеротрофной азотфиксации.

Не отмечено достоверного влияния возрастающих концентраций металлов в составе осадков на дегидрогеназную и протеазную активность почв, за исключением целлюлолитической, уровень которой возрастал пропорционально концентрации металлов в осадке.

Оценку влияния ОСВ на структуру микробного сообщества почвы осуществляли на основе фактологических критериев, включающих численность основных физиологических групп микроорганизмов – бактерий, грибов и актиномицетов. Исходный почвенный образец был представлен следующими показателями этих критериев: численность бактерий, характеризующих гетеротрофный пул, учитываемых на среде МПА, – $83,3$ и $319,5 \cdot 10^{10}$ КОЕ/г; количество жизнеспособных пропагул микромицетов – 10 и $1156 \cdot 10^5$ КОЕ/г; стрептомицетов – $27,75$ и $230 \cdot 10^6$ КОЕ/г, на 5 и 30 сутки, соответственно. На 5 сутки от начала исследования отмечено достоверное увеличение численности гетеротрофных бактерий в вариантах P_1 , P_5 , P_{10} по сравнению

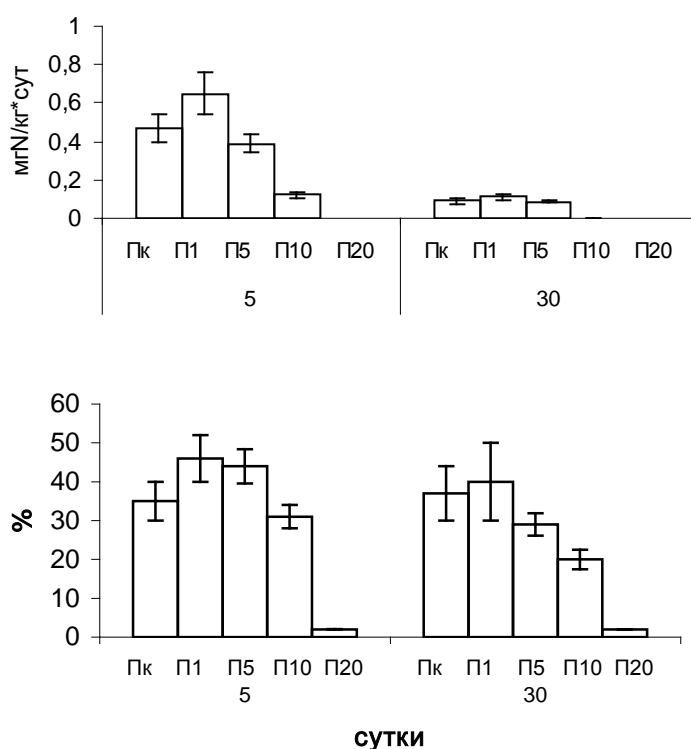


Рис.3.5. Влияние металлов, входящих в состав осадков сточных вод на интенсивность микробной азотфиксации (верхний рисунок) и относительное содержание бактерий рода *Azotobacter* (нижний рисунок) 5 суток инкубирования, отмечено увеличение численности

с контролем и угнетение их численности в случае образца P_{20} . Численность микромицетов и актиномицетов в опытных вариантах на 5 сутки исследования достоверно не отличалась от уровня контрольного варианта. Через 30 суток инкубирования установлено снижение численности бактерий во всех опытных вариантах на 60-90% по сравнению с контрольным вариантом. По сравнению с количеством, определенным на 5 сутки, численность бактерий снизилась на 93, 84 и 90% соответственно в образцах P_1 , P_5 и P_{10} . По сравнению с численностью, определенной на 5

сутки инкубирования, отмечено увеличение численности актиномицетов и

микромицетов во всех опытных вариантах.

Корреляционный анализ результатов, полученных на 30 сутки инкубирования образцов, показал, что наиболее адекватно отражали воздействие токсичных компонентов ОСВ на сообщество серой лесной почвы такие критерии, как углерод микробной биомассы, метаболический коэффициент, активность процесса азотфиксации и численность бактерий рода *Azotobacter*.

7. Влияние способа предварительной обработки осадка сточных вод на компонентный состав и биологическую активность почвы

Предварительная обработка осадков необходима как для их обеззараживания, так и для снижения их экотоксикологического потенциала. Поскольку ранее было обнаружено, что наименьшим токсическим эффектом обладает компостируемый осадок, именно этот способ обработки изучен более подробно применительно к вновь образующимся и старым ОСВ г. Казани. Для этого варьировали следующие характеристики процесса: исходную влажность осадка, количество наполнителя, а также рассматривали возможность применения в качестве наполнителя опилок, соломы, торфа и органической фракции твердых бытовых отходов. В качестве оптимальных признаны вариант, представляющий смесь осадка, опилок и торфа при массовом соотношении 1:1:1 и влажности осадка 74%, предназначенный для последующего использования в качестве почвоулучшителя и вариант - смесь осадка и органической фракции твердых бытовых отходов при массовом соотношении 1:2 и влажности осадка 69% для использования в качестве укрывного материала для полигонов твердых бытовых отходов.

На следующем этапе было оценено влияние анаэробно сброженного, компостируемого и необработанного осадков на почвенный микробоценоз. Внесение различно обработанных осадков сточных вод вызывало увеличение микробной биомассы (в 2-2,3 раза) и дыхательной активности (в 1,3-9 раз) (табл. 3.3). Более выраженный и долговременный стимулирующий эффект отмечен в варианте с внесением компоста. Достоверно возрастал относительно начального уровня ($3 \text{ мкг CO}_2\text{-C/мгC}\cdot\text{час}$), характерного для контрольного образца почвы, метаболический коэффициент $q\text{CO}_2$ после внесения в почву осадков. По сравнению с необработанным осадком наименьшее значение $q\text{CO}_2$ отмечено в варианте с внесением компоста.

Применение всех типов осадков вызывало увеличение активности дегидрогеназы, уреазы и интенсивности разложения целлюлозы на 50-80%. Достоверное влияние на протеазную активность отмечено только при добавлении компоста (на 60-75% выше контроля).

При внесении в почву компостируемого и анаэробно сброженного осадков сточных вод отмечено увеличение интенсивности азотфиксации на 40-95% относительно контроля. В случае применения необработанного осадка отмечалось некоторое снижение азотфиксирующей активности.

В целом, наибольшая стимуляция биологической активности по всем показателям отмечалась для варианта с внесением компостированного осадка. В связи с этим, оптимальным способом биологической обработки ОСВ крупного промышленного города можно считать компостирование.

Таблица 3.3

Изменения микробной биомассы ($\text{мг С}_{\text{микр}} \text{ кг}^{-1}$) в образцах серой лесной почвы, обработанной различными видами осадка сточных вод

Время, сутки	Почва с необработанным осадком	Почва с анаэробно сброженным осадком	Почва с компостом из осадка	Контрольная почва
1	4020 ± 840	3960 ± 2140	4970 ± 950	2450 ± 540
3	1120 ± 160	1220 ± 230	3910 ± 2500	890 ± 240
7	990 ± 400	580 ± 92	2150 ± 410	924 ± 92
15	871 ± 131	720 ± 115	1980 ± 260	910 ± 46
30	856 ± 86	910 ± 264	2240 ± 310	812 ± 154
60	711 ± 156	420 ± 109	1640 ± 160	854 ± 247
90	1190 ± 350	1590 ± 350	1920 ± 330	824 ± 107

8. Оценка допустимой нагрузки компонентов компоста из осадка сточных вод на биогеоценоз лесного питомника как основа для разработки экологически обоснованных норм воздействия

Компост был произведен непосредственно на территории лесного питомника Матюшенского лесничества Пригородного лесхоза. Исследования проводили в течение двух ротаций посевов сосны обыкновенной (1998-2002 гг.). Схема полевого исследования приведена в разделе «Материалы и методы». Установлено отсутствие достоверного увеличения содержания органического вещества почвы в первую ротацию и дозо-зависимый эффект от его внесения во вторую ротацию. Анализ поведения металлов, показал, что внесение компоста увеличивает валовое содержание металлов в почве, однако не приводит к достоверному увеличению содержания их подвижных форм.

8.1. Влияние компонентов компоста из осадка сточных вод на почвенный микробный биоценоз. Внесение компоста во всех вариантах опыта вызывало достоверное увеличение микробной биомассы (в 2,5-10 раз) и интенсивности базального дыхания (в 1,5-2 раза) с последующим его снижением, как при первом, так и при повторном внесении компоста (рис. 3.6). Не влияло на активность азотфиксации внесение компоста в первую ротацию посевов сосны, однако, во вторую было выявлено ингибирование суммарной нитрогеназной активности в вариантах последействия компоста и в вариантах внесения высоких доз (рис.3.7).

Каких-либо достоверных изменений в активности почвенных ферментов – дегидрогеназы, протеазы и уреазы отмечено не было. Уровень их активностей

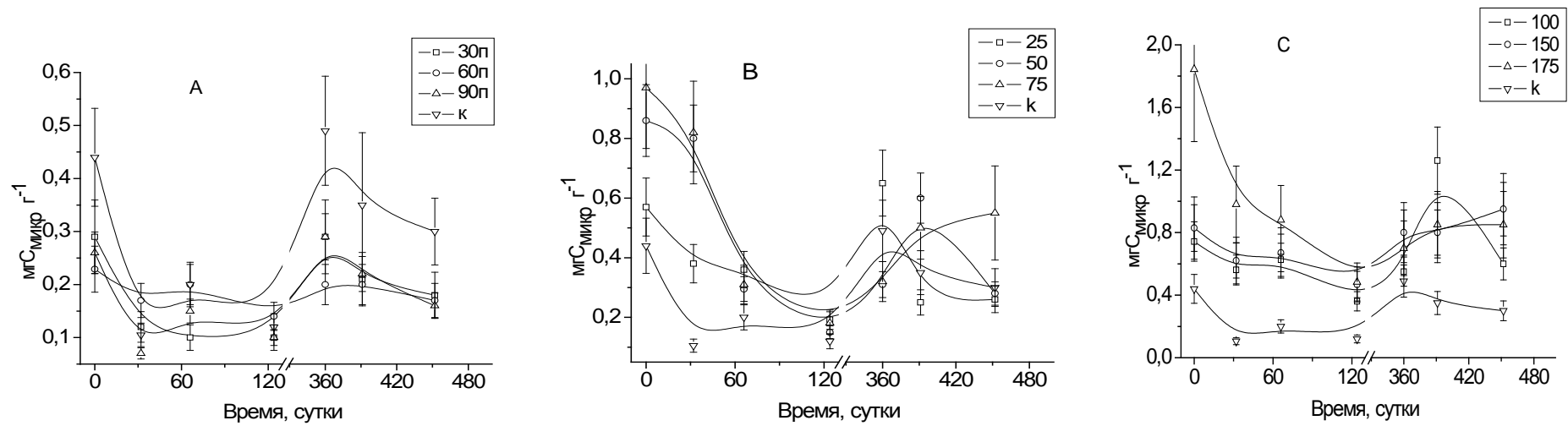


Рис. 3.6. Изменение микробной биомассы серой лесной почвы при различных частоте и дозах внесения компоста

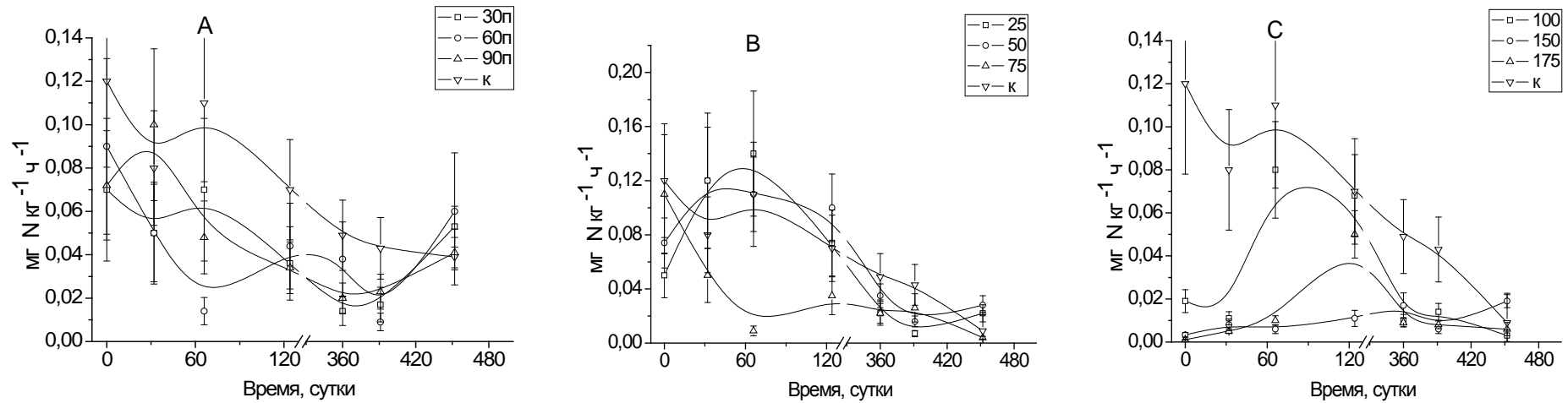


Рис. 3.7. Изменение азотфиксирующей активности серой лесной почвы при различных частоте и дозах внесения компоста

флуктуировал на уровне контрольного варианта и отражал естественные временные закономерности.

Определение динамики численности основных эколого-трофических групп микроорганизмов и последующий расчет коэффициентов минерализации органического азота, олиготрофности и педотрофности позволили судить о влиянии компонентов ОСВ на структуру и функциональную активность почвы. Численность микроорганизмов в почвенных образцах варьировала на протяжении вегетационного сезона, динамика численности имела следующий вид. Количество гетеротрофных бактерий в необработанной (контрольной) серой лесной почве питомника варьировало в интервале $(1,8-52,6) \cdot 10^7$ КОЕ/г, максимум отмечали на 30 сутки исследования (рис. 3.8). Общий

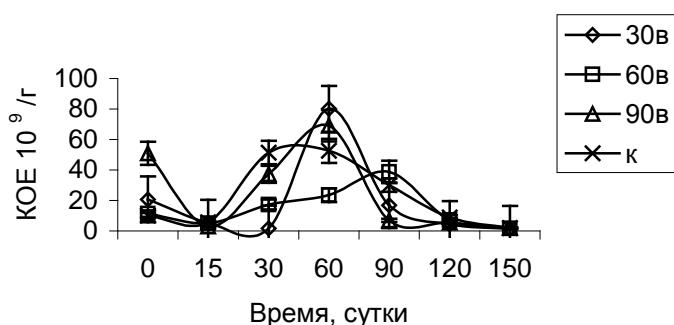


Рис. 3.8. Влияние компостируемого осадка на численность гетеротрофных бактерий в зависимости дозы внесения. Весеннее внесение

вид динамики численности гетеротрофных бактерий в опытных вариантах с внесением компоста в целом был схож с таковым в контроле, однако, максимальное количество отмечено на 60 сутки. Резкое увеличение количества пропагул микромицетов в вариантах опыта, как и в контроле, приходилось на 30 сутки исследований, но имело более выраженный характер (выше контроля в 2,3-3,8 раз).

Численность спорообразующих бактерий подчинялась общей закономерности и зависела от дозы внесенного компоста. Применение компостируемого осадка не приводило к достоверному увеличению численности бактерий, использующих минеральные формы азота и, соответственно, коэффициента минерализации органического азота, что может свидетельствовать как о крайней степени истощенности исходной почвы, так и о малой доступности внесенного субстрата в начальный период наблюдений. При этом меньшая доза внесенного компоста оказалась более доступной для микробного разложения. О высокой степени гумифицированности органического вещества свидетельствует возрастание коэффициента педотрофности, при дозах 60 и 90 т/га. Очевидно, что внесение дополнительного органического вещества приводит к задержке первоначальной минерализации, поэтому и коэффициент олиготрофности находится на уровне контроля и подчиняется естественным закономерностям.

Таким образом, внесение в обедненную серую лесную почву органического субстрата в виде компоста из осадков сточных вод закономерно приводит к временной дестабилизации сообщества, тем более выраженной, чем больше доза внесения.

8.2. Влияние компонентов компоста из осадка сточных вод на посеvy сосны обыкновенной. В первую ротацию посевов сосны выявлено увеличение всхожести

семян сосны и снижение количества погибших сеянцев при всех вариантах внесения компоста (рис.3.9).

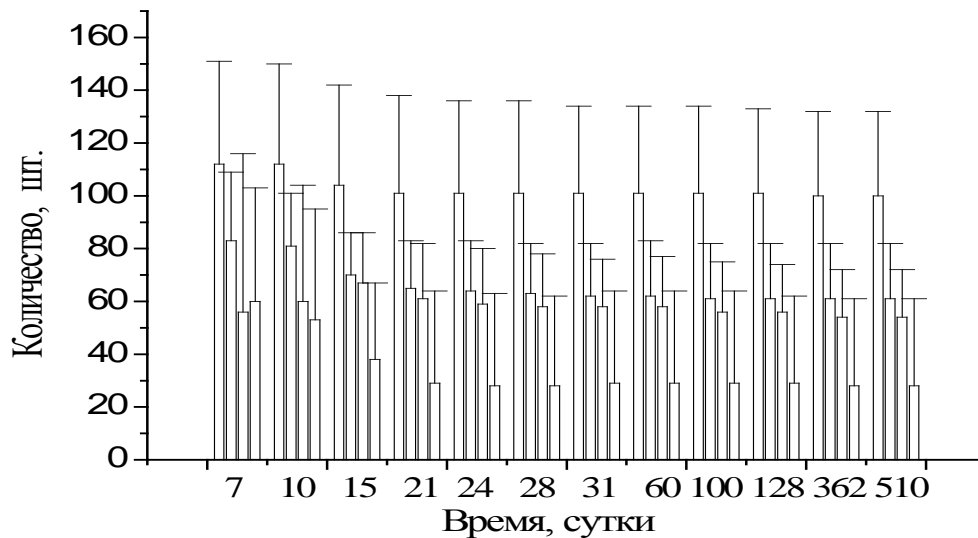


Рис. 3.9. Динамика численности всходов и сеянцев сосны обыкновенной при весеннем внесении компоста из осадка сточных вод (первая ротация посевов сосны). Столбцы в группах слева направо – доза внесения 90, 60, 30 т/га и контроль

Во вторую ротацию посевов выявлено, что количество всходов на участках, где компост вносили четыре года назад (30п, 60п и 90п), сопоставимо с количеством в контрольном варианте – 56-62 штук. Однако количество погибших растений в контрольном варианте оказалось в 1,4-2,3 раза выше по сравнению с указанными вариантами. Поэтому и сохранность растений к осени в контрольном варианте оказалась достоверно ниже по сравнению со всеми опытными вариантами. Отражением указанных процессов является показатель грунтовой всхожести, для которого установлена прямая положительная корреляция с дозой внесения компоста.

Оценка биометрических показателей растений, отобранных в конце второго года выращивания, выявила, что наибольшей высотой характеризовались сеянцы на участках с внесением компоста в 2001 г. в дозе 175 т/га – 19,8 см, однако, и в случае внесения компоста четыре года назад (варианты 30п, 60п и 90п) высота надземной части оказалась достоверно больше контроля (рис. 3.10). Обнаружена прямая корреляция между дозой компоста и высотой побегов ($R=0,91$ для вариантов последствия и $R=0,8$ для вариантов повторного внесения компоста). Внесение компоста привело также к увеличению биомассы единичного растения. По сравнению с контрольным вариантом в 1,2-1,8 раз больше оказалась биомасса надземной части растений, выросших на опытных участках, и в 1,2-1,7 раз – корневой части.

Определение содержания металлов в сухой массе сеянцев сосны второго года выращивания выявило, что увеличение дозы компоста не привело к пропорциональному увеличению содержания металлов ни в побегах, ни в корневой

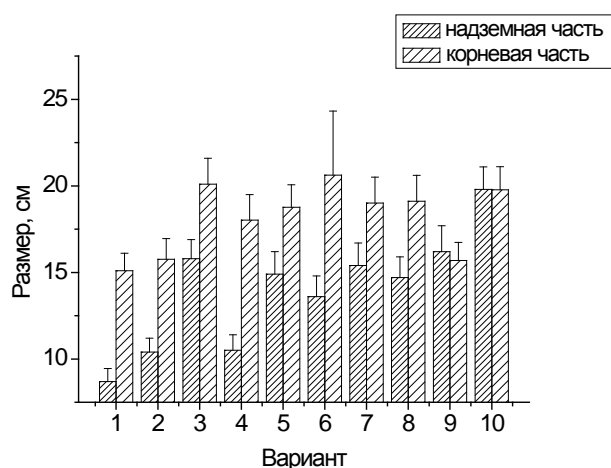


Рис. 3.10. Размеры сеянцев сосны второго года выращивания (вторая ротация посевов сосны). 1-контроль, 2-30п, 3-60п, 4-90п, 5-25, 6-50, 7-75, 8-100, 9-150, 10-175.

части сеянцев сосны. В целом по вариантам, в наибольшем количестве накапливались Mn и Zn. Минимальным содержанием характеризовались Cd и As.

Анализ продуктивности почв лесного питомника, проведенный во вторую ротацию посевов сосны, позволил установить, что наибольшая продуктивность, отмечена для вариантов внесения компоста в высоких дозах (100, 150 и 175) и оказалась выше продуктивности контрольного варианта в 5,8, 6 и 9,8 раз соответственно.

Выявлено, что даже через четыре года после внесения компоста продуктивность почв в вариантах, демонстрирующих его последствие в 1,2; 2,0 и 1,9 раз выше по сравнению с контролем.

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Разработка экспериментальной схемы оценки опасности ОСВ для природной среды. Рассмотрение возможных сценариев обращения с ОСВ позволили выделить два направления экологического нормирования. В первом осадки рассматриваются как отходы производства и нормированию подлежат сами осадки. Основное внимание было сосредоточено на разработке критериев состояния осадков, ориентированных на оценку интенсивности процессов переноса токсических веществ осадков в сопредельные среды, а также процессов токсикации на различных уровнях организации живых организмов. Для оценки реального экотоксикологического потенциала осадков было предложено изучать водный экстракт ОСВ, поскольку негативный эффект на живые организмы в первую очередь обусловлен выщелачиванием, фильтрацией или поверхностным смывом токсичных компонентов осадков при их хранении на иловых картах, большая часть которых не имеет защитного экрана, захоронении на полигонах либо бесконтрольном размещении на почве. Оценку осуществляли с использованием метода биотестирования, при этом мы исходили из того, что для адекватного рассмотрения ситуации необходимо применение батареи тест-организмов. Аналогичная точка зрения о предпочтительности применения батареи тест-объектов по сравнению с индивидуальными тестами изложена в работах ряда авторов (Bioassays..., 1995; Кабиров с соавт., 1997; Kordel., Rombke, 2001; Lombi et al., 2002; Chaineau et al., 2003). Однако необходимо отметить, что лишь одна из работ (Robidoux et al., 1999), посвящена биотестированию ОСВ, при этом целью являлось простое выявление в потоке образующихся осадков, тех которые содержат токсичные компоненты.

В состав батареи включены тест-объекты: бактерии *Pseudomonas putida*, простейшие *Paramecium caudatum*, беспозвоночные *Daphnia magna* и высшие растения *Raphanus sativus*. Указанные виды являются обитателями водных и почвенных биоценозов, представляют прокариотов и эукариотов, причем в число последних входят как растительные, так и животные организмы. Тест-реакциями служили смертность *P. caudatum*, *D. magna* и ингибирование роста *Ps. putida* и *R. sativus*. В качестве критерия экологического нормирования ОСВ предложена токсичность водного экстракта, устанавливаемая по кратности его разведения, вызывающего 10%-ный эффект на тест-реакцию (ЛКр₁₀ или ЭКр₁₀), которая служила показателем нормирования.

В системе управления антропогенным воздействием основополагающее значение имеет не только выявление неблагоприятных изменений в биологических системах, но и тех численных значений интегрального показателя качества среды или дозы воздействия, которому они соответствуют. Для того чтобы иметь возможность применять результаты определения токсичности для ранжирования осадков по степени опасности, были приготовлены модельные образцы осадков, при подготовке которых исходили из следующего. Во-первых, они должны содержать максимально большой спектр характерных для ОСВ токсичных соединений, и поэтому для их приготовления в качестве исходной матрицы использовали реальные осадки крупного промышленного города. Во-вторых, дополнительное внесение конкретных доз металлов должно обеспечивать такое конечное их содержание, при котором на основании расчетного метода образцы были бы отнесены к осадкам с индексами опасности, близкими к K=10, K=100 и K=1000, разделяющим следующие классы опасности: практически неопасные и малоопасные (K10), малоопасные и умеренно опасные (K100) и умеренно опасные и высокоопасные (K1000). Результаты биотестирования указанных образцов с использованием четырех предложенных тест-организмов позволили выявить, что нативный экстракт образца K10 не вызывал достоверного негативного эффекта ни у одного из тест-организмов. Для образцов K100 и K1000 определены значения ЛКр₁₀ или ЭКр₁₀, которые существенно различались в зависимости от использованных тест-объектов. Исходя из того, что предложенные процедуры биотестирования имеют разные сроки и формы контакта с токсикантом, считается некорректным сравнивать чувствительность тест-организмов. Однако, на наш взгляд, корректно предпринять сравнение чувствительности тест-методов в целом как инструмента для оценки опасности исследуемого образца. Анализ тестов по уменьшению степени их чувствительности позволило расположить их в следующий ряд *D. magna*, *P. caudatum*, *Ps. putida*, *R. sativus*.

Полученные значения ЛКр₁₀ или ЭКр₁₀ положены в основу ранжировочной таблицы, что позволило подойти к формализации процедуры биотестирования. В свою очередь, это дало основание предложить подход к отнесению ОСВ к классам опасности, интегрирующий как расчетный, так и экспериментальный метод определения,

основанный на результатах экотоксикологических исследований. Этап, включающий экспериментальную оценку, предложен нами впервые.

Оценка токсикометрических характеристик тест-организмов по отношению к стандартным токсикантам и определение метрологических характеристик методик биотестирования. Одной из основных проблем биотестирования, сдерживающей его широкое применение, является отсутствие общегосударственных стандартизированных методик, позволяющих корректно сравнивать результаты, полученные в различных лабораториях, и принимать на базе результатов экотоксикологических исследований управленческие решения. Поэтому с целью последующей стандартизации методик с использованием *Ps. putida*, *P. caudatum* и *R. sativus* были экспериментально определены такие токсикометрические характеристики как диапазон модельного токсиканта, вызывающий 50% эффект (LC_{50} и EC_{50}), а также оперативные нормативы сходимости и воспроизводимости методик. Установленные значения LC_{50} и EC_{50} и их диапазоны, рассчитанные на основании определения значения погрешности определения ($\sigma(\bar{x})$) для LC_{50} или EC_{50} , существенно различались для всех организмов. Минимальное значение LC_{50} $K_2Cr_2O_7$ (1,65 мг/л) было выявлено в случае *D. magna*. По степени токсикорезистентности тест-методы располагались в следующем порядке: *P. caudatum*, *Ps. putida*, *R. sativus* и *D. magna*. Нормативы сходимости и воспроизводимости, установленные для биотестирования стандартного токсиканта, оказались существенно ниже, по сравнению с таковыми, установленными для реальных образцов. Например, для методики биотестирования с использованием *P. caudatum* значения d и D в случае стандартного токсиканта при его концентрации равной LC_{50} составили 13,2% и 32,4% соответственно, тогда как в случае тестирования реальных образцов осадков их значения составили 44,0 и 51,5% соответственно. Эти различия вполне закономерны, поскольку каждый реальный образец является многокомпонентным, поэтому, чем сложнее матрица исследуемого образца ОСВ, отходов и почв, тем вероятнее ошибка измерения.

Определение экотоксикологического потенциала реальных образцов осадков сточных вод и отходов. Анализ минеральных и органических токсикантов, присутствующих в составе проанализированных осадков, позволил установить, что диапазоны их содержания традиционны для ОСВ. По итогам определения класса опасности расчетным методом было установлено, что максимальное число образцов отнесено к 5 классу опасности (53,1%), меньшее – к 4 классу (43,8%) и один образец – к 3 классу опасности. Иная картина наблюдалась при определении класса опасности экспериментальным способом на основании результатов биотестирования. Подавляющее большинство образцов ОСВ было отнесено к 4 классу опасности (65,7%), значительно больше оказалось образцов, отнесенных к 3 классу – 28,1%, тогда как образцы практически неопасные (5 класс) составили лишь 6,2%. По совокупности результатов для 62,5% образцов итоговый класс опасности был присвоен на основании экспериментального способа, для 3,1% образцов – расчетного. Более низкий класс

опасности, установленный расчетным методом, может быть обусловлен тем, что в составе образца присутствуют какие-либо неидентифицируемые токсиканты или являться результатом синергического действия компонентов. В целом, на основе результатов биотестирования к практически неопасным (5 класс) может быть отнесено образцов в 8,6 раз ниже по сравнению с количеством, установленным расчетным способом. Полученные результаты подтверждают необходимость экспериментального способа для более эффективной защиты биотических компонентов экосистем.

Особый интерес представляют результаты биотестирования. Можно было полагать, что поскольку металлы являются основным токсичным компонентом ОСВ, тест-объект, проявивший к ним наибольшую чувствительность, будет определять ситуацию при установлении класса опасности реальных образцов. Однако тест с *D. magna*, проявивший наибольшую чувствительность к металлам в опытах со стандартным токсикантом и модельными образцами, не явился определяющим в установлении класса опасности. Так, лишь в случае 9,4% исследованных образцов максимальный класс опасности был установлен на основе результатов тестирования с использованием *D. magna*. Наибольшую эффективность проявил тест с использованием *Ps. putida* (25% образцов).

Изменение уровня токсичности осадков сточных вод в процессе их обработки и хранения. Биотестирование реальных образцов выявило, что ОСВ, характеризующиеся примерно одинаковым содержанием металлов, проявляют различную токсичность. Поэтому на следующем этапе были подробнее изучены факторы, которые могут влиять на формирование уровня токсичности. Для этого были подготовлены образцы на основе реального осадка станции очистки г. Казани, достоверно не отличающиеся по содержанию металлов, но обработанные различными способами - исходный осадок, анаэробно сброженный, обработанный флокулянтom, а также компостированный образец, содержание металлов в котором было в 2-3 раза ниже. Кроме этого, были проанализированы образцы, подвергнутые хранению. Установлено существенное увеличение уровня ингибирования тест-функций всех тест-организмов в случае осадка, подвергнутого реагентной обработке (образец Каз_{фп}), что может быть объяснено использованием в технологии сгущения осадка в фильтр-прессе токсичного флокулянта «Праестол 655BC». Напротив, биологическая обработка и в меньшей мере хранение осадка снижают уровень токсичности. Снижение уровня токсичности (в 3-7,5 раз) происходит при анаэробной обработке. Максимальное изменение уровня токсичности (в 6-15 раз) обеспечивает процесс компостирования, частично за счет уменьшения концентрации металлов, обусловленной механическим разбавлением наполнителем. Кроме этого, снижение токсичности в процессе биологической обработки осадков может быть связано с деструкцией органических токсикантов микроорганизмами. После биологической обработки понижается в 2-4 раза содержание бенз(а)пирена, ДДТ и его метаболитов, фенолов. В процессе биологической обработки также может происходить иммобилизация металлов за счет связывания их ионов в

нерастворимые гуминовые комплексы, продуцируемые при гумификации органического вещества и, как следствие, снижение их доступности и токсичности (Voutsas et al., 1997; Lau et al., 2001). Полученные данные на наш взгляд чрезвычайно важны с позиции прогнозирования возможных путей дальнейшей экологически и экономически приемлемой утилизации осадков. Представляется очевидным, что реагентная обработка осадков ведет к невозможности использования осадков в качестве удобрения и целесообразна в случае преобладания в объеме сточных вод промышленных стоков или при планировании захоронения осадков в специально отведенных местах. Минимальная токсичность экстракта, полученного из компостированного ОСВ, позволяет считать этот способ обработки предпочтительным, обеспечивающим наиболее низкий уровень негативного влияния на живые организмы. Второй важный аспект полученных результатов заключается в подтверждении значимости и необходимости экспериментальной оценки опасности ОСВ. Действительно, как показывают наши исследования, осадки, характеризующиеся одним порядком содержания металлов, демонстрируют различные эффекты по отношению к живым организмам, что предполагает и их последующее дифференцированное влияние на организмы окружающей среды.

Оценка природных и антропогенных факторов формирования уровня фитотоксичности осадков сточных вод. Поскольку компостированный образец продемонстрировал максимальное снижение токсичности, указанный процесс был изучен более подробно. Ранее была установлена прямая корреляция ответных откликов тест-организмов при оценке обработанных осадков, поэтому в данном опыте мы рассматривали только изменение токсичности, оцениваемой с использованием растительного тест-объекта – *R. sativus*. Выявлено, что уровень фитотоксичности снижался в процессе четырехмесячного компостирования, но демонстрировал увеличение на 30 сутки исследования. Такое увеличение может быть связано с выявленным повышением степени экстрагируемости металлов на 30 сутки компостирования, наиболее выраженном в случае Cd, Cu и Pb. В целом же установлено снижение уровня подвижности металлов к концу компостирования, что согласуется с данными снижения уровня фитотоксичности и свидетельствует в пользу их участия в данном процессе. Другим возможным фактором, обуславливающим фитотоксичность в процессе компостирования или старения осадков, может являться присутствие продуктов микробной жизнедеятельности ассоциированных с микроорганизмами, доминирующими на ранних стадиях компостирования, как правило, микромицетами. Такая возможность показана в отношении почвы (Марфенина, 1991; Fliebbach et al., 1994; Кураков, Козлова, 2002). Свидетельством того, что микромицеты, входящие в состав осадка, обладают способностью продуцировать токсины, явился выявленный высокий ингибирующий эффект культуральной жидкости сообщества микромицетов, входящих в состав реального ОСВ г. Казани. В дальнейшем было изучено микромицетное сообщество. На основании оценки типичности и положения в структуре

доминирования (критерий частоты встречаемости и показатель плотности вида) 14 выделенных изолятов была составлена схема комплекса микромицетов, который включал два штамма, отнесенных к группе доминирующих, три – к группе часто встречаемых, остальные штаммы были отнесены к группе случайных. Последующая оценка способности к токсинообразованию штаммов, отнесенных к группам доминирующих и часто встречаемых, показала, что четыре из пяти штаммов проявили фитотоксичность, причем наибольший эффект оказывали штаммы, отнесенные к группе доминирующих. Идентификация изолированных штаммов позволила установить доминирование в микромицетном сообществе ОСВ грибов рода *Aspergillus*, что, скорее всего, определяется высоким содержанием металлов в осадке и согласуется с данными литературы об их устойчивости к тяжелым металлам, присутствующим в почве (Марфенина, 1991; Chander et al., 2001). В целом, полученные результаты позволили нам считать, что уровень токсичности ОСВ формируется под влиянием комплекса факторов. Вклад в уровень токсичности ОСВ вносит как антропогенный фактор (непосредственно токсичные соединения), так и микробные метаболиты, выделяемые представителями микробного сообщества осадков, состав которого формируется под влиянием селекционирующего действия токсичных соединений. Таким образом, воздействие токсикантов антропогенного происхождения, присутствующих в составе осадков, может проявляться и в неявном виде через изменение состава доминирующих видов микробоценоза. Полученные результаты позволяют сформировать гипотезу общности в путях формирования токсичности объектов, содержащих органическое вещество и загрязненных металлами.

Обоснование системы критериев состояния серой лесной почвы в условиях воздействия компонентов осадков сточных вод. Экспериментальная оценка класса опасности осадков является важной предпосылкой при решении вопроса о возможности и способе рациональной утилизации осадка. Однако для решения этой задачи, необходимо учитывать не только способность осадков удерживать токсичные соединения, опасность которых определяется при тестировании водного экстракта, но и негативные последствия внесения осадков в почву как среду обитания организмов. В связи с этим нами было развито второе направление экологического нормирования, которое рассматривает осадки как источник полезных элементов, например, нетрадиционное удобрение или частичный заменитель почвы, использование которых осложнено присутствием токсикантов. С этих позиций основным объектом нормирования является почва. На первом этапе нормирования должны разрабатываться критерии состояния почв, на втором – уровни предельно-допустимых нагрузок. Поскольку при внесении ОСВ экосистемы испытывают одновременное и противоположное влияние органического вещества и токсичных компонентов, что затрудняет трактовку полученных результатов, представлялось необходимым предварительно выявить критерии, наиболее адекватно отражающие изменения в экосистемах. Для этого в условиях лабораторного эксперимента было проведено

моделирование размещения на почве осадков, содержащих возрастающие концентрации металлов. В наиболее явном виде влияние токсичных компонентов ОСВ проявляется по прошествии 30 суток инкубирования смесей почвы и осадка. Так, если на 5 сутки инкубирования отмечено некоторое увеличение уровня микробной биомассы и достоверное увеличение активности азотфиксации по сравнению с контролем, что связано с внесением легкодоступного органического вещества, то на 30 сутки инкубирования установлено достоверное снижение как уровня микробной биомассы, так и активности азотфиксации. Анализ численности основных физиологических групп микроорганизмов позволил охарактеризовать изменение структуры микробного сообщества. Это представляет интерес, поскольку изменения в микробном сообществе могут происходить даже без видимых потерь микробной биомассы (Baath et al., 1998). Через 30 суток инкубирования установлено снижение численности бактерий как по сравнению с контрольным вариантом, так и по сравнению с их численностью в начале опыта. Одновременно отмечено увеличение численности актиномицетов и микромицетов во всех опытных вариантах по сравнению с численностью, определенной на 5 сутки измерения. Это обусловлено перераспределением в составе микробного сообщества по степени доминирования более устойчивых к металлам организмов. Снижение численности бактерий может быть связано как явлением антагонизма, проявляемого грибными организмами (Мирчинк, 1988), так и с прямым токсическим действием металлов (Звягинцев с соавт., 1997). Впрочем, в литературе представлены и данные об увеличении численности бактерий, устойчивых к Zn, под действием высокого содержания металлов и снижению численности актиномицетов и грибов (Kelly et al., 1999).

Сведения об изменении в присутствии токсикантов почвенного дыхания, используемого для измерения микробиологической активности (McGrath et al., 1995; Ананьева с соавт., 1997, 2002 а,б), часто противоречивы. Анализ почвенного микробного дыхания показал, что внесение модельных образцов осадков в почву существенно увеличило дыхательную активность микробных сообществ. Повышение было наиболее выражено в почве с наибольшим содержанием металлов (в 7,3 раза). Это означает, что высокие концентрации металлов приводят к стрессу микробного сообщества, для преодоления которого микроорганизмы увеличивают свою метаболическую активность.

Метаболический коэффициент (qCO_2) зачастую может быть более показательным свидетельством нарушения метаболического равновесия в системе (Anderson, Domsch, 1993; Jiang et al., 2003). Действительно, установленные различия в значениях qCO_2 между контрольным и опытными вариантами оказались существенно большими, чем таковые различия в случае микробной биомассы и базального дыхания в отдельности. Значения метаболического коэффициента со временем имели тенденцию к снижению за исключением варианта с максимальным содержанием металлов, что может свидетельствовать о попытках восстановления сообщества. Согласно современным

представлениям, такое увеличение метаболического коэффициента означает стресс почвенного микробного сообщества, поскольку любое нарушение экосистемы сопровождается перераспределением энергии, когда большая ее часть расходуется на поддержание клеток (Odum, 1985, Brookes, 1995, Moreno et al., 1999). Одновременно существует мнение о том, что трактовать увеличение $q\text{CO}_2$ с позиций энергетической оптимизации возможно только в условиях долговременного полевого эксперимента, когда микробное сообщество находится в стабильном состоянии (Giller et al., 1998). В случае же лабораторных исследований причины увеличения $q\text{CO}_2$ могут быть несколько иными. Так, токсичные металлы убивают часть микроорганизмов, результатом чего является резкое увеличение процесса разложения микробных клеток. Именно это само по себе вызывает увеличение $q\text{CO}_2$. Действительно, под действием металлов из состава сообщества элиминируются бактерии и снижается суммарная биомасса, что может свидетельствовать в пользу второго мнения. Однако, на наш взгляд, и возможность энергетического дисбаланса полностью исключить нельзя.

Оценка влияния возрастающих концентраций металлов в составе ОСВ на нитрогеназную активность гетеротрофных микроорганизмов и численность бактерий рода *Azotobacter* продемонстрировала высокую чувствительность указанных критериев. К числу положительных характеристик данных методов может быть отнесена высокая корреляция с содержанием металлов. Ферментативная активность почв оказалась непригодным критерием в случае внесения в почву металлов в составе ОСВ, несмотря на то, что она широко применяется в биологической диагностике почв, загрязненных металлами (Звягинцев с соавт., 1997). Представляют интерес результаты, полученные при определении интенсивности разложения хлопчатобумажного полотна (целлюлолитической активности). Обнаруженное нами увеличение целлюлолитической активности, прямо пропорциональное увеличению дозы металлов в образцах ($R=0,96$), может быть связано с перераспределением в структуре микробного сообщества в сторону более устойчивых организмов – микромицетов и актиномицетов которые являются основными деструкторами сложных биополимеров в почве (Звягинцев, Зенова, 2001).

В целом, проведенные исследования позволили сделать следующее заключение. Ответная реакция почвенного микробоценоза на внесение ОСВ с различным содержанием металлов определяется балансом разнонаправленных эффектов воздействия органического вещества и токсичных компонентов, в частности металлов, входящих в их состав. При малом содержании металлов доминирующим является положительное влияние органического вещества, и почвенные процессы стимулируются. Высокое содержание металлов снижает благотворный эффект органического вещества и ингибирует образование микробной биомассы, активность азотфиксации и содержание азотобактера, что позволяет рекомендовать их в качестве критериев для оценки загрязнения почв металлами, входящими в состав ОСВ. В то же время, присутствие высоких доз металлов стимулирует респираторную активность

почвенных микроорганизмов. И в этом аспекте метаболический коэффициент (qCO_2) является очень чувствительным показателем стресса, испытываемого почвой после внесения осадков с высоким содержанием металлов.

Согласно мнению ряда авторов, результаты лабораторных экспериментов демонстрируют наихудший сценарий ответной реакции почвенного биоценоза на воздействие токсиканта и не всегда легко экстраполируются на природный биоценоз (Van Straalen, Van Gestel, 1993, Kapanen, Itavaara, 2001). Признавая эти утверждения верными, мы считаем, что предложенный подход, включающий также определение класса опасности экспериментальным способом, может быть использован на первоначальных этапах для прогнозирования эффектов от внесения реальных ОСВ в почву при рассмотрении вопроса о путях их потенциальной утилизации (рис.4.1).

Влияние способа предварительной обработки осадка сточных вод на компонентный состав и биологическую активность почвы. Помимо того, что обработка ОСВ изменяет их токсикологическую характеристику, необходимо было установить, играет ли какую-либо роль способ обработки осадка в ответной реакции почвенного микробного сообщества при их использовании в качестве почвоулучшителя. С этой целью было проведено сравнение эффектов, оказываемых необработанным (имитирующим хранение на иловых картах), анаэробно сброженным и компостируемым осадками на биоценоз обедненной серой лесной почвы в условиях полевого эксперимента. Предварительно были установлены оптимальные параметры процесса компостирования для ОСВ г. Казани.

Обработка почвы осадками приводила на первоначальном этапе к увеличению уровня углерода микробной биомассы почвы во всех вариантах опыта. Это связано с внесением значительной доли биомассы активного ила и легкодоступного органического вещества, стимулирующего развитие аборигенной микрофлоры.

В последующий период ее уровень в вариантах с необработанным и анаэробно сброженным осадками снижался до уровня контрольного варианта, тогда как при внесении компостированного осадка уровень биомассы был выше в 1,9-4,4 раза по сравнению с контролем на протяжении всего эксперимента. Стимулирующий эффект осадков согласуется с данными, представленными в работах ряда авторов (Hue, 1995; Moreno et al., 1999; Garcia-Gill et al., 2000), относящих указанный эффект на счет положительного влияния питательных элементов на гетеротрофный блок микроорганизмов. Увеличение респираторной активности на первых этапах исследования свидетельствует о высокой отзывчивости данного показателя на внесение органического субстрата. Более быстрое снижение уровня дыхательной активности в вариантах с необработанным и анаэробно сброженным осадками по сравнению с компостируемым осадком, скорее всего, связано с тем, что органическое вещество осадка после компостирования более устойчиво к микробному разложению (Moreno et al., 1999). Оценка значений метаболического коэффициента выявила, что внесение осадков приводит к достоверному увеличению уровня qCO_2 , при этом наличие

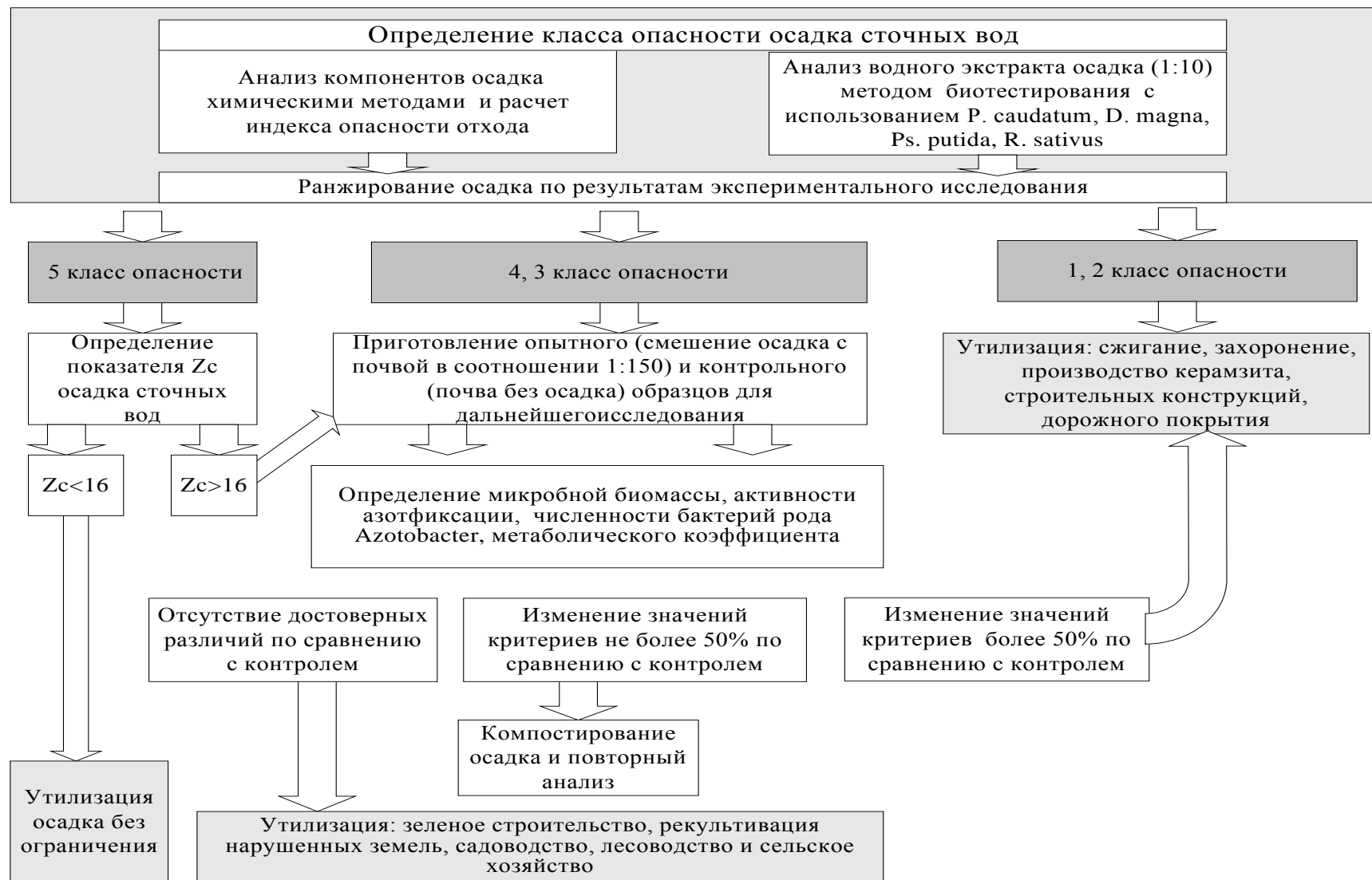


Рис. 4.1. Схема оценки экологической опасности осадка сточных вод и выбора способа их утилизации

легкодоступного органического вещества в необработанном осадке обуславливает и более высокие значения метаболического коэффициента по сравнению с анаэробно сброженным и компостированным осадками. Поскольку дозы внесения осадков рассчитывали таким образом, чтобы содержание металлов в почве находилось на сопоставимом уровне, а обработанные участки различались качеством, т.е. стабильностью органического вещества, наблюдаемые изменения $q\text{CO}_2$ обусловлены скорее влиянием органического вещества, чем металлов.

Как и в случае метаболического коэффициента, азотфиксирующая активность почвенного сообщества в образцах с необработанным осадком существенно отличалась от вариантов с анаэробно сброженным и компостированным осадками. Это может быть связано с рядом факторов. Во-первых, необработанный осадок содержит большее количество свежего органического азотсодержащего вещества, микробная трансформация которого приводит к высвобождению аммонийного азота, который вызывает обратимое подавление активности нитрогеназы (Стахурлова, Щербаков, 1996). Внесение ОСВ привело к изменению уровня ферментативных активностей серой лесной почвы. В частности, обнаружено увеличение дегидрогеназной активности при внесении всех типов осадка, коррелирующее с увеличением уровня микробной биомассы и респираторной активности, что связано с добавлением органического субстрата. Возможно, за счет большей гумифицированности компоста (Ayuso et al., 1996; Hernandez-Apaolaza et al., 2000) и изменения гумусного состояния почвы после его внесения (Куликова с соавт., 1996) активность дегидрогеназы при использовании компостов выше по сравнению с другими типами обработки осадков.

Согласно мнению, представленному в работах Madejon с соавторами (2001) и Pascual с соавторами (1997), внесение свежего нестабильного органического вещества обезвоженных осадков более интенсивно стимулирует почвенные микробные процессы и поэтому является предпочтительным при рекультивации или восстановлении плодородных свойств почв по сравнению с компостами, которые рекомендуются авторами к применению в качестве ростовых субстратов. Однако, базируясь на результатах проведенных полевых исследований, а также принимая во внимание то, что лишь процесс компостирования приводит к снижению содержания металлов и уменьшает риск, ассоциированный с фитотоксическими соединениями, мы считаем целесообразным применять именно компостированный ОСВ, даже несмотря на меньшее содержание в нем органического вещества.

Определение допустимой нагрузки компонентов компоста из ОСВ на биогеоценоз лесного питомника. Применение осадков, образующихся на станциях очистки крупных промышленных городов, в качестве почвоулучшителя наиболее рационально и безопасно при выращивании лесных культур. Во-первых, поскольку хранение образующихся ОСВ представляет собой определенную экологическую опасность для окружающей среды, их утилизация могла бы стать решением сразу двух экологически важных проблем. Во-вторых, такой способ утилизации позволяет экономить природные

удобрения и одновременно возвращать в биогеохимические круговороты биогенные элементы, входящие в состав ОСВ. Однако каждый конкретный случай применения ОСВ должен предваряться исследованиями в рамках экологического нормирования исходя из различий почвенных характеристик, широкого спектра компонентов, входящих в состав осадков, различной интенсивности почвенных микробиологических процессов, разнообразия выращиваемых растений, а также немногочисленности публикаций о данном способе применения ОСВ (Lambert et al., 1985; Costanidi et al., 1995; Романов, 1997).

В условиях полевого опыта, проведенного в лесном питомнике в течение двух ротаций посевов сосны, выявлено, что обработка почв компостом из ОСВ привела к увеличению содержания органического углерода почвы, особенно в вариантах с высокой дозой компоста. Также отмечено увеличение содержания в почве ряда металлов, количество которых, однако, не превысило значений, установленных в странах ЕС в качестве предельных для почв, обработанных ОСВ (Mc Grath et al., 1995).

Как в первую, так и во вторую ротацию посевов сосны внесение компоста привело к увеличению уровня микробной биомассы в начальный момент исследования и последующему отмиранию части неадаптировавшейся интродуцированной и аборигенной микрофлоры. Согласно результатам второй ротации посевов сосны в вариантах, демонстрирующих последствие компоста, а также при повторном внесении компоста в дозах 25 и 50 т/га уровень микробной биомассы достоверно не отличался от уровня контрольного варианта. Высокие же дозы компоста (100, 150 и 175 т/га) и повторное внесение в дозе 75 т/га оказывали пролонгированный стимулирующий эффект на протяжении всего периода исследования.

Повторное внесение компоста в умеренных дозах (25, 50 и 75 т/га) (периодичность один раз в два года) оказывали стимулирующее влияние на метаболическую активность микроорганизмов, увеличивая эмиссию CO_2 . Выше уровня контрольного варианта в среднем в 2 раза оказалась и респираторная активность в вариантах с внесением 100, 150 и 175 т/га. Эта стимуляция метаболической деятельности микроорганизмов определяется увеличением количества свежего органического вещества в почве. Поскольку содержание металлов в компостах и почвах исследуемых образцов в нашем случае существенно ниже значений, указанных в литературе, представляется маловероятным то, что установленный эффект обусловлен дополнительной энергетической нагрузкой на почвенные микроорганизмы, связанной с механизмом формирования толерантности к металлам (Witter, Dahlin, 1995).

Поскольку содержание металлов в образцах оказалось ниже по сравнению с тем уровнем, который вызывает ингибирование гетеротрофной азотфиксации (McGrath et al., 1995, Иутинская с соавт., 1997), мы предположили, что факторами, определяющими интенсивность азотфиксирующей активности, являются внесение доступного

органического вещества и влияние продуктов его метаболизма, в частности аммонийного азота. Оптимальным оказалось внесение умеренных доз компоста с периодичностью один раз в два года, в результате чего ингибирование активности гетеротрофных азотфиксаторов отсутствовало.

Общие закономерности динамики численности микроорганизмов определяются типом почвы, географической зоной, климатическими условиями. Стадии почвенной сукцессии связаны с конвейерной переработкой органического вещества почвы, типом жизненной стратегии и антропогенного воздействия (Звягинцев с соавт., 1996; Полянская с соавт., 1997, 2001). На основе анализа, проведенного в первую ротацию посевов сосны, установлено, что внесение компостов в обедненную серую лесную почву вызывало первоначальное снижение численности микроорганизмов практически всех исследуемых групп. Однако через определенное время после внесения компоста возрастала численность гетеротрофных бактерий (на 60 сутки), совпадающая по времени с возрастанием дегидрогеназной активности и интенсивности респирации, и численность пропагул микромицетов (на 30 сутки исследований), что свидетельствовало об увеличении общей функциональной активности микробоценоза. Численность спорообразующих бактерий подчинялась общей закономерности и зависела от дозы внесенного компоста. Увеличение соотношения покоящихся и вегетативных форм микроорганизмов отражает действие неблагоприятных факторов, к которым, в частности, может относиться и изменение доступности органического вещества в экологической нише. Поэтому внесение 90 т/га компоста приводит к переходу в покоящееся состояние неадаптировавшейся части сообщества в начале сезона.

Функциональная активность почвенного микробного сообщества характеризуется численностью и соотношением отдельных групп микроорганизмов. Внесение компостированного осадка не приводило к достоверному увеличению численности бактерий, использующих минеральные формы азота и, соответственно, коэффициента минерализации, причем меньшая доза внесенного компоста оказалась более доступной для микробного разложения. Это подтверждается и более высокой респираторной активностью в этом варианте. Более высокие дозы компоста, вероятно, являются бóльшим стрессом для сообщества. В связи с этим, неостребованное в полной мере органическое вещество, уже частично гумифицированное в процессе компостирования, под влиянием происходящих в почве химических процессов продолжает фиксироваться, становясь менее доступным основному числу гетеротрофных микроорганизмов. О более высокой степени гумифицированности органического вещества в почвах с внесением компоста в дозе 90 т/га свидетельствует возрастание на 60 сутки исследований численности автохтонной микрофлоры, специализирующейся на разложении сложных гумусовых соединений (Андреюк с соавт., 1988). По той же причине численность олиготрофных бактерий, характеризующая интенсивность прошедших к настоящему моменту процессов минерализации, оставалась на уровне

контрольного варианта на протяжении всего вегетационного сезона. Поскольку внесение свежего органического вещества приводит к задержке первоначальной минерализации, коэффициент олиготрофности находится на уровне контроля и подчиняется естественным закономерностям.

Таким образом, внесение в обедненную серую лесную почву органического субстрата в виде компоста закономерно приводит к временной дестабилизации сообщества, выраженной тем более, чем больше доза внесения. Добавление компоста приводит к первоначальной задержке роста микроорганизмов и удлинению лаг-фазы, связанной с периодом адаптации микроорганизмов к новым условиям. Высокие дозы требуют большего времени для микробной трансформации, обогащая почву органическим субстратом на длительный срок, за счет чего влияние их на микробное сообщество более пролонгировано.

Оценка воздействия компонентов компоста из ОСВ на некоторые характеристики посевов сосны обыкновенной *Pinus sylvestris*. Однозначно положительный эффект от внесения компоста установлен при выращивании сеянцев сосны. При всех вариантах внесения компоста выявлено увеличение численности всходов и сеянцев сосны и снижение количества погибших сеянцев, наибольшее при высоких дозах компоста (100-175 т/га). Установленные закономерности подтверждаются и данными о грунтовой всхожести семян *Pinus sylvestris*: прямая положительная корреляция установлена между дозой внесения компоста и грунтовой всхожестью семян, как в первую ($R=0,97$), так и во вторую ротацию ($R=0,95$) посевов сосны. Оценка биометрических показателей позволила выявить, что во вторую ротацию посевов дозо-зависимое увеличение размеров сеянцев отмечено при внесении компоста в дозах до 90 т/га при периодичности внесения один раз в два года и при внесении высоких доз компоста (100-175 т/га). Внесение компоста оказало благотворное влияние и на биомассу сеянцев сосны - биомасса единичного сеянца увеличилась в 1,2-1,8 раз. Возможным фактором, влияющим на интенсивность роста и биометрические показатели сеянцев сосны, является содержание в растительной массе токсичных соединений. Как в первую, так и во вторую ротацию посевов сосны содержание металлов в сеянцах опытных вариантов оказалось выше по сравнению с контрольным вариантом. В целом же уровень металлов, накапливающихся в растениях, сопоставим с данными об их содержании в древесных растениях (Романов, 1997). При анализе содержания элементов в сухой массе растений было выявлено, что во всех вариантах опыта наиболее активно накапливались в растениях Mn, Zn и Cu, наименее активно – Cr и Cd, что согласуется с уровнем биофильности элементов. Оценка миграционной способности металлов по величинам КБП позволила расположить элементы в порядке его снижения в следующей последовательности: Zn, Cd, Mn, Pb, Cu, Ni, Cr. Установленная закономерность согласуется с результатами содержания подвижных форм металлов в почве. При анализе распределения металлов по частям растения (корни и наземная часть) выявлено, что для большинства из элементов просматривается уменьшение накопления

металлов в ряду корни - наземная часть за исключением двух металлов – цинка и марганца, для которых наблюдается инверсия ряда. Не были обнаружены какие-либо закономерности в накоплении металлов в зависимости от дозы внесения компоста или периодичности внесения. В целом аккумуляция металлов не оказала негативного влияния на развитие растений, что подтверждают биометрические показатели растений и рассчитанная продуктивность почв.

ВЫВОДЫ

1. Впервые разработан комплексный подход к экологически безопасному использованию муниципальных осадков сточных вод крупного промышленного города, основанный на комплексном сочетании экотоксикологических, микробиологических и химико-аналитических исследований, направленных на ранжирование осадков по степени их опасности, выбор рационального способа их переработки, определение и обоснование норм внесения в качестве почвоулучшителя или заменителя почвы.
2. Достоверная оценка потенциальной опасности осадков сточных вод для наземных и водных экосистем при их размещении в окружающей среде обеспечивается с помощью биологической оценки токсичности осадков путем совместного исследования тест-реакций организмов различных уровней организации (бактерий *Pseudomonas putida*, простейших *Paramecium caudatum*, беспозвоночных *Daphnia magna*, высших растений *Raphanus sativus*) в сочетании с расчетным способом, основанным на определении валового содержания токсикантов. Определены количественные характеристики дозо-зависимых функций, позволяющие отнести осадки к 2-5 классам опасности (практически неопасным, малоопасным, умеренно опасным и высокоопасным) в соответствии с «Критериями...» (2001) и обоснован алгоритм процедуры биотестирования.
3. Установлено, что токсичность осадков сточных вод - динамический показатель, формируется под влиянием совокупности биотических и антропогенных факторов, к числу которых относятся прямое токсическое действие доступных форм металлов и влияние фитотоксинов, продуцируемых доминирующими и часто встречаемыми в составе осадков микромицетами. Существенно снижают уровень токсичности осадков компостирование (на 75–100%) и анаэробное сбраживание (на 25-71%), тогда как обработка осадков флокулянтами приводит к увеличению уровня их токсичности (на 33-66%).
4. Выявлена достоверная взаимосвязь ($R=0,87-0,99$) ряда фактологических (углерод микробной биомассы, метаболический коэффициент, численность бактерий рода *Azotobacter*) и функционального (интенсивность азотфиксации) критериев состояния почвы с уровнем загрязнения вносимых осадков, которая положена в основу количественной оценки состояния почв, обработанных осадками. Впервые предложена схема лабораторного исследования осадков сточных вод с использованием алгоритма ранжирования осадков по классам опасности и системы информативных критериев состояния почвенного сообщества.

5. С помощью совокупности избирательных характеристик микробного биоценоза серой лесной почвы компостирование, как способ предварительной обработки осадков при их внесении в почву признан наиболее безопасным по сравнению с анаэробным сбраживанием. Определены оптимальные режимы компостирования осадка сточных вод, формирующихся на станции очистки крупного промышленного города (влажность осадка 70%, соотношение наполнителя и осадка сточных вод – торф : опилки : осадок - 1:1:1 или дробленая органическая фракция бытовых отходов : осадок - 2:1, продолжительность компостирования 2 месяца при перемешивании 2-4 раза в месяц и 3 месяца созревания компоста без перемешивания) для последующего использования в качестве почвоулучшителя, а также укрывного материала при рекультивации полигонов твердых бытовых отходов.

6. Экологически обоснована допустимая нагрузка при внесении компоста из осадка сточных вод крупного промышленного города в обедненную серую лесную почву лесного питомника под посевы сосны обыкновенной, составляющая 90 т/га при периодичности внесения один раз в два года. Показано, что внесение высоких доз компоста (100-175 т/га) при положительном эффекте на почву и растения (увеличение органического вещества почвы, всхожести семян *Pinus sylvestris*, снижение отпада всходов, увеличение биометрических показателей сеянцев и продуктивности посевов) сопровождается пролонгированной дестабилизацией почвенного микробного сообщества (изменение респираторной активности, микробной биомассы, метаболического коэффициента, азотфиксирующей активности микроорганизмов). Умеренные дозы компоста (до 90 т/га) при периодичности внесения один раз в два года оказывают меньший благотворный эффект на посевы сосны, при отсутствии достоверного воздействия на биологическую активность почв и изменения численности различных эколого-трофических групп и функциональной активности почвенных сообществ.

7. Определение токсикометрических и метрологических характеристик позволило унифицировать ряд методик биотестирования, аттестовать, включить в Федеральный реестр методик выполнения измерений и внедрить в практику государственного и ведомственного экологического контроля методику определения токсичности отходов, почв, осадков сточных вод, сточных, и очищенных сточных, поверхностных, грунтовых и питьевых вод с использованием парameций.

Основные публикации по теме работы

Монографии

1. Селивановская С.Ю Биологические законы инженерии окружающей среды / Я-Т. Ханг, С.Ю. Селивановская, В.З. Латыпова.- Казань: Унипресс, 1999.- 99с.
2. Селивановская С.Ю Биологическая обработка отходов / Я-Т. Ханг, С.Ю. Селивановская, В.З. Латыпова.- Казань: Унипресс, 1999.- 118с.
3. Селивановская С.Ю Обработка промышленных отходов / Я-Т. Ханг, С.Ю. Селивановская, В.З. Латыпова.- Казань: Унипресс, 1999.- 74с.

4. Селивановская С.Ю. Региональное нормирование антропогенных нагрузок на природные среды / В.З. Латыпова, С.Ю. Селивановская, Н.Ю. Степанова, Р.М. Винокурова.- Казань, Изд-во «Фэн», 2002.-372с.

Статьи

1. Селивановская С.Ю. Токсикологическое тестирование сточных вод, подлежащих биологической очистке, с помощью ресничных инфузорий / С.Ю. Селивановская, А.П. Маслов, Р.П. Наумова // Химия и технология воды.-1993.-т.15,№9-10.-С.286-290.
2. Селивановская С.Ю. Формирование иммобилизованных сообществ, очищающих сточные воды от органических соединений / С.Ю. Селивановская, А.М. Петров, К.В. Егорова, Р.П. Наумова // Химия и технология воды. - 1995.- Т.17, №11-12.- С. 618-622.
3. Selivanovskaya S.Y. Protozoa and Metazoa Communities Treating a Simulated Petrochemical Industry Wastewater in Rotating Disc Biological Reactor / S.Y. Selivanovskaya, A.M. Petrov, K.V. Egorova, R.P. Naumova // World Journal of Microbiology and Biotechnology.- 1997.-V.18, N1.- P.197-204.
4. Selivanovskaya S.Yu. On the possibility of involvement of microelements of sewage sludge into biochemical circulation / S.Yu. Selivanovskaya, V.Z. Latypova, R.P. Naumova, G.M. Ravzieva // Environ. Radioecology and Appl. Ecology.- 1997.-N1.-P.13-19.
5. Латыпова В.З. Оценка экологической токсичности осадков сточных вод / В.З. Латыпова, С.Ю. Селивановская, Янг-Тсе Ханг, Д.А. Семанов, А.Г. Габайдуллин // Токсикологический вестник.- 1999.-№3.-С.13-17.
6. Латыпова В.З. Некоторые аспекты нормирования качества и утилизации осадков сточных вод / В.З. Латыпова, С.Ю. Селивановская // Экологическая химия.- 1999.-№2.-С.14-22.
7. Селивановская С.Ю. Природные и антропогенные факторы формирования фитотоксичности осадков сточных вод / С.Ю. Селивановская, В.З. Латыпова, Ф.К. Алимова // Токсикологический вестник.-1999.-№5.-С. 14-18.
8. Jakimova M.V. Composting of municipal solid waste / M.V. Jakimova, S.Yu. Selivanovskaya, Y-T. Hung, V.Z. Latypova //OCEESA Journal.- 2000.-V17, N1.-P.52-56.
9. Равзиева Г.М. Влияние обработки осадков сточных вод на уровень их токсичности / Г.М. Равзиева, Д.А. Семанов, В.З. Латыпова, С.Ю. Селивановская // Вестник ТО РЭА.- 2000.- №2.-С.58-61.
10. Селивановская С.Ю. К вопросу экспериментальной оценки класса токсичности отходов / С.Ю. Селивановская, В.З. Латыпова // Деп. в ВИНТИ №833-ВОО, 29.03.2000г. – 12с.
11. Selivanovskaya S.Yu. Use of microbial parameters to assess treatment methods of municipal sewage sludge applied to grey forest soils of Tatarstan / S.Yu. Selivanovskaya, V.Z. Latypova, S.N. Kiyamova, F.K. Alimova // Agriculture, Ecosystems and Environment.- 2001.-V.86,N2.-P.145-153.
12. Селивановская С.Ю. Обоснование системы экспериментальной оценки класса токсичности осадков сточных вод и выбора способа их утилизации / С.Ю. Селивановская, В.З. Латыпова // Экологическая химия.- 2001.-т.10,№2.-С.124-134.
13. Селивановская С.Ю. Микробная биомасса и биологическая активность серых лесных почв при внесении осадков городских сточных вод / С.Ю. Селивановская, В.З. Латыпова, С.Н. Киямова, Ф.К. Алимова //Почвоведение.- 2001.-№2.-С.227-233.
14. Семанов Д.А. Сравнительный анализ подходов к определению класса токсичности осадков сточных вод / Д.А. Семанов, Г.М. Равзиева, Д.И. Хабибуллин, В.З. Латыпова, С.Ю. Селивановская // Токсикологический вестник.- 2001.-№3.-С. 2-6.
15. Ведерников Н.М. Некоторые аспекты использования компостов из городских осадков сточных вод в качестве почвоулучшителя в лесных питомниках / Н.М. Ведерников, С.Ю. Селивановская, В.З. Латыпова, Н.С. Федорова // Сборник научных статей, посвященных 75-летию Татарской ЛОС ВНИИЛМа «Проблемы лесного хозяйства Среднего Поволжья и пути их решения», Пушкино, 2001. -С.122-132.
16. Selivanovskaya S.Yu. Responses of microorganisms to soil amendment with sewage sludge / S.Yu. Selivanovskaya, V.Z. Latypova, S.N. Kiyamova, D.G. Tazieva, Z.N. Arefieva // Environ. Radioecol. and Appl. Ecol.- 2001.-V7,N2.-P.6-14.

17. Селивановская С.Ю. Влияние осадков сточных вод, содержащих металлы, на микробные сообщества серой лесной почвы / С.Ю. Селивановская, В.З. Латыпова, С.Н. Киямова, Ф.К. Алимова // Почвоведение.- 2002.-№5.-С.588-594.
18. Селивановская С.Ю. Микробная трансформация осадков сточных вод в процессе их компостирования / С.Ю. Селивановская, А.А. Алексеев, В.З. Латыпова // Вестник ТО РЭА.- 2002.-№3-4.-С.125-131.
19. Селивановская С.Ю. Воздействие компоста из осадков сточных вод на геохимический фон почв и растения лесных питомников / С.Ю. Селивановская, В.З. Латыпова, Л.А. Артамонова // Экологическая химия.-2002.-№3.-С.201-209.
20. Киямова С.Н. Влияние типа обработки осадков сточных вод на ферментативную активность серых лесных почв при их использовании в качестве почвоулучшителя / С.Н. Киямова, Ф.К. Алимова, В.З. Латыпова, С.Ю. Селивановская. // Нива Татарстана.- 2002.-№1.-С.9-11.
21. Арефьева З.Н. К выбору рабочих условий определения микроэлементов в составе осадков сточных вод городских очистных сооружений / З.Н. Арефьева, Г.К. Будников, С.Ю. Селивановская, В.З. Латыпова, Д.А. Семанов // Химия в интересах устойчивого развития, 2002.- №10.-С.401-408.
22. Selivanovskaya S.Yu. The Use of Bioassays for Evaluating the Toxicity of Sewage Sludge and Sewage Sludge-Amended Soil / S.Yu. Selivanovskaya, V.Z. Latypova // J Soils & Sediments.-2003.-V.3,N2.-P.85-92.
23. Selivanovskaya S.Yu. Use of sewage sludge as the restoration agent on the degraded soil of Tatrstan / S.Yu. Selivanovskaya, V.Z. Latypova, L.A. Artamonova // Journal of Environmental Science and Health. Part A.-2003.-V.A38,N8.-P.1559-1566.

Тезисы и учебные пособия

1. Селивановская С.Ю. Очистка сточных вод иммобилизованной микрофлорой / С.Ю. Селивановская, Н.Н. Храмова, А.П. Маслов Очистка сточных вод иммобилизованной микрофлорой // Актуальные проблемы современной биологии: Тез докл. зональн. конференции.- Казань, 1989.-С.123-127.
2. Маслов А.П. Новый тест для биомониторинга токсичности сточных вод/ А.П. Маслов, С.Ю. Селивановская, Р.П. Наумова // Новые направления биотехнологии: Тез. докл. конф.- Пушкино, 1992.-С.168.
3. Селивановская С.Ю. Формирование иммобилизованных биоценозов при очистке сточных вод от комплекса токсичных соединений / С.Ю.Селивановская, А.М. Петров, К.В. Егорова // Новые направления биотехнологии: Тез. докл. конференции.-Пушино, 1994.-С.18.
4. Селивановская С.Ю. Стандартизация метода биотестирования токсичности сточных вод с использованием равноресничной инфузории / С.Ю. Селивановская, К.В. Егорова // Актуальные экологические проблемы Республики Татарстан: Тез. докл. I Республиканской научной конференции.-Казань, 1994.-С.104-105.
5. Ермолаев А.И. Генотоксическая характеристика осадков сточных вод / А.И. Ермолаев, В.З. Латыпова, С.Ю. Селивановская // Актуальные экологические проблемы Республики Татарстан: Тез. докл. II Республиканской научной конференции.-Казань, 1995.-С.78.
6. Евтюгин Г.А. Биохимическая оценка качества природных и очищенных сточных вод / Г.А. Евтюгин, С.Ю. Селивановская, В.З. Латыпова, Р.П. Наумова // Актуальные экологические проблемы Республики Татарстан: Тез. докл. II Республиканской научной конференции.-Казань, 1995.-С.78.
7. Selivanovskaya S.Yu. Biodegradation of aromatic compounds complex by immobilized microbial communities / S.Yu. Selivanovskaya, A. Petrov, R. Naumova // Biosorption and Bioremediation: Book of Abstracts International Seminar.- Czech Republic, 1995.- P. 20.
8. Наумова Р.П. Токсико-экологическая оценка осадков городских станций очистки сточных вод / Р.П. Наумова, В.З. Латыпова, Г.М. Равзиева, С.Ю. Селивановская // Почва, отходы производства и потребления: проблемы охраны и контроля: Тез докл. научно-практической конференции.-Пенза, 1996г.-С 68.

9. Селивановская С.Ю. Контроль качества промышленных сточных вод на основе интегральной оценки токсичности с использованием *Paramecium caudatum* / С.Ю. Селивановская, А.М. Петров, В.З. Латыпова, Р.П. Наумова // Почва, отходы производства и потребления: проблемы охраны и контроля: Тез докл. научно-практической конференции.- Пенза, 1996г.- С.32.
10. Гайфуллин А.А. Разработка способа предочистки объединенного потока концентрированных сточных вод производства СОП АО "Нижнекамскнефтехим" / А.А. Гайфуллин, А.М. Петров, Т.Н. Преображенская, С.Ю. Селивановская, Х.Э. Харлампиди Р.П. Наумова // Нефтехимия-96: Тез. докл. IV конференции по интенсификации нефтехимических процессов.- Нижнекамск, 1996.-С.174-175.
11. Селивановская С.Ю. Формирование иммобилизованного биоценоза, очищающего сточные воды от комплекса ароматических загрязнений / С.Ю. Селивановская, А.М. Петров, К.В. Егорова // VII съезд гидробиологического общества РАН: Тез. докл.- Казань, 1996.- т.3.- С.72-73.
12. Наумов А.В. Перспективные подходы к использованию микроорганизмов в мониторинге химического загрязнения и очистке воды / А.В. Наумов, О.И. Якушева, С.К. Зарипова, С.Ю. Селивановская, Р.П. Наумова // VII съезд гидробиологического общества РАН: Тез. докл.- Казань, 1996.- т.3.- С.58-60.
13. Равзиева Г.М. Определение токсичности промышленных сточных вод с использованием *Paramecium caudatum* / Г.М. Равзиева, С.Ю. Селивановская, Р.П. Наумова // Синтез, исследование свойств, модификация и переработка высокомолекулярных соединений: Тез. докл. VIII международной конференции молодых ученых.-Казань, 1996.- С.150-151.
14. Selivanovskaya S.Yu. Immobilized microbial communities treating the wastewater from the aromatic compounds / S.Yu. Selivanovskaya, R.P. Naumova // In Situ and On-Site Bioremediation: Book of Abstracts the Fourth International Symposium.- New Orlean, 1997.-V.5.-P.231-232.
15. Selivanovskaya S.Yu. Biomonitoring of the toxicity of the municipal sewage sludge / S.Y. Selivanovskaya G.M. Ravsieva, V.Z. Latypova // Congress on Biotechnology: Book of Abstracts from 8th European Congress.- Budapest, 1997.-P.299-300.
16. Латыпова В.З. Осадки сточных вод как потенциальный источник генетической опасности / В.З. Латыпова, С.Ю. Селивановская // Вопросы генетической опасности в РТ: Тез. докл. конференции.- Казань, 1997.- С.21-22.
17. Гайнуллина С.Р. Влияние осадков сточных вод на биологическую активность почв / С.Н. Гайнуллина, С.Ю. Селивановская, Ф.К. Алимова // Актуальные экологические проблемы республики Татарстан: Тез. докл. III Республиканской научной конференции, 1997.-С.21.
18. Равзиева Г.М. Токсичность осадков сточных вод как интегральный параметр при определении степени их экологической опасности / Г.М. Равзиева, С.Ю. Селивановская, В.З. Латыпова // Актуальные экологические проблемы республики Татарстан: Тез. докл. III Республиканской научной конференции, 1997.-С.46.
19. Латыпова В.З. Экологическая токсикология: система тестов для оценки токсичности / В.З. Латыпова, С.Ю. Селивановская, Г.А. Евтюгин // I съезд токсикологов России: Тез докл.- М, 1998.-С.71
20. Зобов В.В. Методические указания по биотестированию природных и сточных вод / В.В. Зобов, Н.Ю. Степанова, А.М. Петров, Р.Р. Шагидуллин, С.Ю. Селивановская // Казань: ЦПК «Табигать», 1997.- 36с.
21. Селивановская С.Ю. Биотестирование токсичности осадков сточных вод с использованием равноресничной инфузории *P. caudatum* / С.Ю. Селивановская, Г.М. Равзиева, В.З. Латыпова // Инфузории в биотестировании: Тез. докл. международной заочной научно-практической конференции.- СПб, 1998.-С.36-39.
22. Selivanovskaya S.Yu. Soil effects due to sewage sludge application / S.Yu. Selivanovskaya, S.N. Gainullina, F.K. Alimova, V.Z. Latypova // In Situ and On-Site Bioremediation: Book of Abstracts of the Fifth International Symposium.- San-Diego, California, 1999.-P.34
23. Селивановская С.Ю. Экология организмов активного ила / С.Ю. Селивановская, В.З. Латыпова.- Казань: Изд-во КГУ, 1999.- 26с.

24. Киямова С.Н. Влияние осадков сточных вод на биологическую активность почв Республики Татарстан / С.Н. Киямова, Ф.К. Алимова, С.Ю. Селивановская // Изучение и охрана биологического разнообразия ландшафтов русской равнины: Тез. докл. международной научной конференции.- Пенза, 1999. –С.27-28.
25. Selivanovskaya S.Yu. Soil effects due to sewage sludge application as the amendment / S.Yu. Selivanovskaya, S.N. Gainullina, F.K. Alimova, V.Z. Latypova // ISCO 99: Book of Abstracts of 10th International Soil Conservation Organization conference.-West Lafayette, USA, 1999.-P.167.
26. Якимова М.В. Совместное компостирование твердых бытовых отходов и осадков сточных вод / М.В. Якимова, С.Ю. Селивановская // Актуальные экологические проблемы республики Татарстан: Тез. докл. IV Республиканской научной конференции. Казань, 2000.-С.150.
27. Селивановская С.Ю. Осадок сточных вод как источник органогенных элементов для улучшения почв лесных питомников / С.Ю. Селивановская, Л.А. Артамонова, Н.М. Ведерников // Актуальные экологические проблемы республики Татарстан: Тез. докл. IV Республиканской научной конференции. Казань, 2000.-С.180-181.
28. Селивановская С.Ю. Система биологических тестов для оценки токсичности объектов окружающей среды (почва). / С.Ю. Селивановская, В.З. Латыпова / Казань, Изд-во КГУ, 2001.- 21с.
29. Кучмина Е.Ю. Влияние *Trichoderma harzianum* на токсические и мутагенные свойства почвы / Е.Ю. Кучмина, Ф.К. Алимова, С.Н. Киямова, О.Б. Иванченко С.Ю. Селивановская // Сельскохозяйственная микробиология в XIX-XXI веках: Тез докл. Всероссийской конференции.- СПб, 2001.- С.30-31.
30. Арефьева З.Н. Определение содержания микроэлементов в осадках сточных вод городских очистных сооружений / З.Н. Арефьева, Г.К. Будников, Д.А. Семанов, С.Ю. Селивановская, В.З. Латыпова // Поволжская конференция по аналитической химии: Тез.докл.- Казань, 2001г.-С.105.
31. Селивановская С.Ю. Микроорганизмы и простейшие в системе биотестирования и нормирования объектов окружающей среды / С.Ю. Селивановская, В.З. Латыпова / Современные проблемы водной токсикологии: Тез. докл. Всероссийской конференции.- Борок, 2002. –С.151-152.
32. Киямова С.Н. Система микробных параметров почв лесных питомников в условиях применения осадков сточных вод / С.Н. Киямова, С.Ю. Селивановская, Ф.К. Алимова, В.З. Латыпова // Экологические основы рационального лесопользования в среднем Поволжье: Тез докл. научно-практической конференции.- Йошкар-Ола, 2002. –С. 51.
33. Селивановская С.Ю. Влияние компоста из осадков сточных вод на свойства серой лесной почвы при выращивании сеянцев сосны обыкновенной / С.Ю. Селивановская, В.З. Латыпова, Н.М. Ведерников, З.Н. Арефьева, Г.М. Равзиева // Экологические основы рационального лесопользования в среднем Поволжье: Тез докл. научно-практической конференции.- Йошкар-Ола, 2002. – С. 55-56.
34. Селивановская С.Ю. Трансформация соединений металлов в процессе биологической обработки органических отходов / С.Ю. Селивановская, Л.А. Артамонова, А.А. Алексеев, В.З. Латыпова // Достижения и перспективы химической науки: Тез. докл. XVII Менделеевского съезда по общей и прикладной химии.- Казань, 2003. - Т.2. - С.94.
35. Селивановская С.Ю. Микробные тесты на токсичность для оценки опасности многокомпонентных отходов, размещаемых в природной среде / С.Ю. Селивановская, В.З. Латыпова // 2-й съезд токсикологов России: Тез. докл. - Москва, 2003. – С.237-238.